

FACULTÉ MIXTE
DE
MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE
DE MARSEILLE

N° 5

SUR LE CONTROLE BACTÉRIOLOGIQUE
DES LAITS PASTEURISÉS

(Recherche des causes de pollution)

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté Mixte de Médecine Générale
et Coloniale et de Pharmacie de Marseille

Le Juillet 1953

PAR

YVETTE BAUDOUARD

née le 20 Janvier 1923, à Marseille

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Professeurs
Examineurs de la Thèse

MM. BALANSARD, Professeur	Président
C. DUMAZERT, Professeur.....	Assesseur
BRAHIC, Professeur.....	»
F. PELLISSIER, Professeur.....	»
C. GREBUS, Agrégé.....	»

MARSEILLE
Imprimerie L. & Y. MEIFFREN
3, Rue Fortia, 3

1953



Digitized by the Internet Archive
in 2026

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE

(chaire d'Histoire Naturelle)

de la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie

**SUR LE CONTROLE BACTÉRIOLOGIQUE
DES LAITS PASTEURISÉS**

(Recherche des Causes de Pollution)

FACULTÉ MIXTE
DE
MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE
DE MARSEILLE

N°

SUR LE CONTROLE BACTÉRIOLOGIQUE DES LAITS PASTEURISÉS

(Recherche des causes de pollution)

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté Mixte de Médecine Générale
et Coloniale et de Pharmacie de Marseille

Le Juillet 1953

PAR

YVETTE BAUDOUARD

née le 20 Janvier 1923, à Marseille

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Professeurs
Examineurs de la Thèse

MM. BALANSARD, Professeur	Président
C. DUMAZERT, Professeur.....	Assesseur
BRAHIC, Professeur.....	»
F. PELLISSIER, Professeur.....	»
C. GREBUS, Agrégé.....	»

MARSEILLE
Imprimerie L. & Y. MEIFFREN
3, Rue Fortia, 3

—
1953



PERSONNEL ENSEIGNANT

DE LA FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

Doyen : G. MORIN

Assesseur : J. DELPHAUT

Doyen Honoraire : L. IMBERT

Professeurs Honoraires : MM. AUBARET, AUDIBERT, BELTRAMI,
BREMOND, GAUJOUX, GABRIEL, HECKENROTH, JOYEUX, OLMER,
RIMATTEI, ROCHE, ROGER.

Chargé de Cours Honoraires : M. TIAN

Secrétaire : J. COMTE

Bibliothécaire : M^{lle} PERPIN

Professeurs

Anatomie	GRISOLI
Anatomie Pathologique et Carcinologie clinique ..	N..
Bactériologie et Pathologie Générale	N..
Chimie Analytique et Hydrologie	N..
Chimie Médicale	DERBIEN
Chimie	DUMAZERT
Clinique Chirurgicale	FIOLLE
Clinique Chirurgicale	MOIROUD
Clinique Chirurgicale Infantile et Orthopédique	SALMON
Clinique Chirurgicale Thérapeutique et Chirurgie Expérimentale	DE VERNEJOUL
Clinique Dermato-syphiligraphique	CHARPY
Clinique Exotique	BLANC
Clinique des Maladies du Système Nerveux	POURSINES
Clinique Médicale	MATTEI
Clinique Médicale	POINSO
Clinique Médicale Thérapeutique	OLMER
Clinique des Maladies des Voies Digestives et de la Nutrition	MONGES
Clinique Médicale Infantile	GIRAUD
Clinique Neuro-Chirurgicale	PAILLAS
Clinique Obstétricale et Gynécologie	N..
Clinique Ophtalmologie	JAYLE
Clinique Urologique	CHAUVIN
Histoire Naturelle	N..
Histologie	ROMIEU
Hygiène et Médecine Préventive	VIOLLE
Matière Médicale	BALANSARD
Médecine Légale et Médecine du Travail	MOSINGER
Parasitologie	SAUTET
Pathologie Chirurgicale	CARCASSONNE
Pharmacologie	F. MERCIER
Pharmacie Chimique et Toxicologie	VIGNOLI

<i>Pharmacie Galénique</i>	DELPHAUT
<i>Physiologie</i>	MORIN
<i>Physique Médicale</i>	DUBOULOZ
<i>Thérapeutique</i>	PIERI
<i>Professeur sans chaire</i>	ARNOUX

Maîtres de Conférences Agrégés

MM. BOURRET	MM. MOURGUE
DONNET	PELLISSIER
GASTAUT	PICARD
GREBUS	RANQUE
J. MERCIER	ROUX

Agrégés en exercice

MM. APPAIX	MM. MARONNEAUD
BERNARD	MONGES Henri
CREMIEUX	OLLIVIER
GRANJON	OURGAUD
HENRY	PAOLI
JOUE	RAYBAUD
LAMY	SERMENT
LAVAL	VAGUE
LENA	

Agrégés libres

MM. AUDIER	MM. DOR
BERTHIER	FIGARELLA
BRAHIC	IMBERT
CHOSSON	RECORDIER

Chargé des fonctions d'Agrégé

<i>Anatomie Pathologique</i>	M. PAYAN
------------------------------------	----------



A LA MEMOIRE DE MA TANTE

A MES PARENTS

AUX MIENS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BALANSARD

Qui a bien voulu nous faire l'honneur d'accepter la présidence de notre Jury de thèse. Très respectueusement.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR C. DUMAZERT

Qui s'est intéressé à mon travail, qu'il veuille croire en ma sincère et respectueuse gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BRAHIC

Qui m'a fait l'honneur de bien
vouloir juger ce travail.

Qu'il soit assuré de mon profond
respect.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR PELLISSIER

Qu'il veuille trouver ici l'expres-
sion de mon respectueux attache-
ment.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ GREBUS

Qui m'a guidé tout au long des
années passées au Laboratoire de
Microbiologie, grâce à sa bienveil-
lance et ses conseils j'ai pu mener
à bien ce travail.

Qu'il veuille trouver dans l'hom-
mage que je lui en fais l'expression
de ma sincère reconnaissance et
et de ma profonde admiration.

A MES MAITRES

DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

A MES CAMARADES

DU LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE
ET DU LABORATOIRE DE CHIMIE BIOLOGIQUE
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE
DE MARSEILLE

SUR LE CONTROLE BACTÉRIOLOGIQUE DES LAITS PASTEURISÉS

---♦♦---

(Recherche des causes de pollution)

---♦♦---

INTRODUCTION

En 1944, le Professeur JAVILLIER qualifiait l'industrie laitière de primitive en France. Elle est cependant une des activités maîtresses de notre pays. Sa production, en effet, est supérieure à celle de l'industrie automobile et de l'industrie sidérurgique. Son importance est donc primordiale au point de vue économique.

Sur le plan de l'hygiène alimentaire, le lait est à la fois un aliment complet et équilibré, proposé comme mesure étalon de la nutrition. C'est le seul aliment de la première enfance ; il est indispensable au développement de l'adolescent, agissant comme facteur de croissance à l'âge scolaire ; utile à l'adulte.

Le Lait, son importance dans l'alimentation.

Par ses protéines il apporte à l'organisme tous les acides aminés indispensables à l'édification des tissus ; ses matières grasses très divisées sont facilement digestibles. Son lactose se transforme en acide lactique qui favorise les fonctions vitales tout en s'opposant aux toxi-infections alimentaires. Son rôle est au premier plan dans le maintien du taux P/Ca de l'organisme.

Mad. RANDOIN, dans un rapport à l'Académie de Médecine, précise « que le lait de vache pur peut sans inconvénient constituer une nourriture exclusive pendant longtemps, à tout âge et en toutes circonstances. »

En Angleterre, le Docteur CORRY MANN montre expérimentalement que le lait de vache frais, récemment pasteurisé, propre et privé de germes, favorise la santé de l'adolescent.

Mais si le lait est incontestablement un aliment de choix pour l'organisme humain, il est aussi un excellent milieu de culture pour un grand nombre de bactéries pathogènes. Il sert de véhicule à ces microbes et peut ainsi être la cause de contaminations dangereuses. Ces pollutions par des germes pathogènes ou même saprophytes altèrent rapidement cet aliment, modifient sa composition et le rendent impropre à la consommation.

Le problème de la pasteurisation et de la conservation du lait est donc de première importance en ce qui concerne l'hygiène, la prophylaxie des maladies contagieuses, l'alimentation et l'économie.

C'est une partie de ce problème que nous envisagerons dans notre thèse. Son étude nous a été rendue possible par le contrôle bactériologique des laits pasteurisés du département des Bouches-du-Rhône, effectué depuis plus de deux ans pour le Service de la répression des fraudes, dans le Laboratoire de Microbiologie de la Faculté.

Le plan de notre travail est le suivant :

Dans la première partie, nous rappellerons :

- 1° *Les textes légaux qui régissent les ateliers de pasteurisation.*
- 2° *Le principe de la pasteurisation et les divers procédés utilisés.*
- 3° *La Microbiologie du lait. Les méthodes de contrôle bactériologique.*

La deuxième partie est le résultat de travaux personnels.

Nous rapporterons :

- 1° *Les résultats d'examens bactériologiques de laits effectués depuis plus de deux ans.*
- 2° *Les recherches des causes de pollution, principalement au stade de l'atelier de pasteurisation.*
- 3° *Les essais de mise en évidence des Entérobactéries pathogènes dans des échantillons de lait expérimentalement pollués.*

CHAPITRE PREMIER

LA LÉGISLATION

L'utilisation de la méthode de pasteurisation du lait, pratiquée depuis 1893 aux Etats-Unis par Stephen FRANCISCO, est restée sans écho en France pendant longtemps.

En 1935 seulement, on envisagea pour certaines catégories de lait un traitement hygiénique, sur la demande pressante du corps médical.

La loi du 2 juillet 1935 indique, dans son article 5, que « les laits ne répondant pas aux prescriptions des articles 4 et 5 ne pourront être vendus en nature en vue de la consommation humaine que s'ils ont été soumis préalablement à un traitement de pasteurisation ou tout autre traitement possédant une efficacité au moins égale au point de vue de l'hygiène. »

D'après les articles 4 et 5, seuls pourront être vendus à l'état cru les laits provenant d'étables soumises, après déclaration, à un contrôle officiel vétérinaire et médical et ceux visés à l'article 5 qui garantissent un minimum de qualité hygiénique. Tous les autres laits doivent être traités.

Cette loi de 1935 est donc une des premières manifestations des pouvoirs publics concernant le traitement hygiénique du lait.

En 1939, le problème de la pasteurisation, alors très développé à l'étranger, est de nouveau pris en considération par le législateur qui promulgue le décret du 26 avril 1939. Ce dernier vise la surveillance et le contrôle des ateliers de pasteurisation et indique ce qu'on doit entendre par « laits pasteurisés » et « laits pasteurisés certifiés ».

Il reprend l'article 6 de la précédente loi de 1935, complète par l'article 2 les modalités de la pasteurisation et dans l'article 3, définit les « laits pasteurisés » et « laits pasteurisés certifiés » :

ART. 3. — « Les laits pasteurisés livrés à la consommation humaine seront divisés en deux catégories :

« 1° « Lait » ayant subi le traitement de pasteurisation prévu par la loi ;

« 2° « Lait pasteurisé certifié ».

« Les laits de la première catégorie devront :

« 1° Etre exempts de germes pathogènes ;

« 2° Ne pas renfermer plus de 100.000 germes microbiens par centimètre cube.

« Ces laits n'auront droit qu'à la dénomination « lait », sans autre adjonction pouvant faire croire à une supériorité de qualité. Toutefois, les marques particulières restent autorisées.

« Les récipients utilisés pour le transport du lait pasteurisé devront être, au préalable, lavés, rincés, avec une solution alcaline chaude, et désinfectés avec les antiseptiques autorisés par le Conseil supérieur de l'Hygiène.

« Les « laits pasteurisés certifiés » devront, jusqu'au moment de la vente au consommateur, répondre aux conditions suivantes :

« a) Absence de germes pathogènes.

« b) Réaction négative dans la recherche des bactéries coliformes (groupe *Escherichia* et *Aerobacter*) dans un volume d'un centimètre cube de lait.

« c) Teneur en germes microbiens inférieure à 30.000 par centimètre cube.

« Ils devront être livrés à la consommation dans des bouteilles préalablement aseptisées, d'une contenance d'un litre au maximum, et qui porteront une bande de garantie verte et l'inscription : « Lait pasteurisé ».

« Ces laits n'auront droit qu'à cette dernière dénomination sans autre adjonction pouvant faire croire à une supériorité de qualité. Toutefois, les marques particulières restent autorisées à condition qu'elles soient nettement distinctes de la mention « lait pasteurisé certifié ».

« Jusqu'au moment de leur vente au consommateur, les bouteilles contenant du lait pasteurisé certifié devront être maintenues à une température n'excédant pas 12 degrés

centigrades. Dans tous les cas, cette vente se fera dans les deux jours qui suivent le jour de la pasteurisation.

« Le contrôle bactériologique des « laits pasteurisés certifiés » pourra être effectué à tout moment, jusqu'à la fin du délai prévu au paragraphe précédent. »

Retenons l'essentiel :

Le « lait pasteurisé » doit :

1° *Etre exempt de germes pathogènes.*

2° *Ne pas renfermer plus de 100.000 germes par centimètre cube.*

3° *Etre livré dans des récipients désinfectés (livraison pratiquement en bidons).*

Le « lait pasteurisé certifié » doit :

1° *Etre exempt de germes pathogènes.*

2° *Ne pas contenir de bacilles coliformes dans un centimètre cube.*

3° *Contenir moins de 30.000 germes par centimètre cube.*

4° *Etre livré en bouteilles aseptisées et capsulées.*

La différence réside donc :

1° Dans le fait que le « lait pasteurisé certifié » ne doit pas renfermer de bactéries coliformes. Mais nous verrons que ce test de contamination fécale marche en principe de pair avec celui des germes pathogènes très difficiles à mettre en évidence d'une façon systématique et sur lesquels d'ailleurs le législateur reste imprécis puisqu'il ne définit pas ce qu'il entend par germes pathogènes.

2° Dans le fait que le nombre de germes vivants totaux ne doit pas dépasser 30.000 germes par centimètre cube pour le lait pasteurisé certifié.

3° Dans le mode de livraison obligatoirement en bouteilles pour le lait certifié.

C'est ce décret du 26 avril 1939 qui régit actuellement les ateliers de pasteurisation.

CHAPITRE II

LA PASTEURISATION DU LAIT

Qu'est ce que la Pasteurisation ?

Nous emprunterons la définition à RAY : « La pasteurisation est une opération qui a pour but de conserver le lait pendant un temps relativement court par l'application d'une température suffisante, seulement pour détruire les formes végétatives des espèces microbiennes dangereuses pour la santé de l'homme et des microbes provoquant l'altération du lait. »

PORCHER nous dit aussi : « Pasteuriser un lait c'est détruire en lui, par l'emploi convenable de la chaleur, la presque totalité de sa flore banale, la totalité de sa flore pathogène quand elle existe, tout en s'efforçant de ne toucher qu'au minimum à la structure physique du lait, à sa composition, à ses équilibres chimiques ainsi qu'aux éléments biologiques (diastases et vitamines). »

Autrement dit, un « lait pasteurisé certifié » doit être incapable de contaminer le consommateur tout en demeurant un aliment complet et équilibré.

Historique.

On cherchait depuis longtemps à empêcher le lait de « tourner » avant son arrivée dans les grands centres. C'est donc dans un but commercial que furent prises les premières mesures tendant à stabiliser cet aliment.

Nicolas APPERT fut le premier qui, sans le savoir, puisqu'il ignorait l'existence des microbes, à stériliser le lait en vue de sa conservation par chauffage au bain-marie aux environs de 100°.

En 1860, PASTEUR, avec sa rigueur scientifique habituelle, définit un procédé de stabilisation qui porte encore son nom. Etudiant les maladies du vin, il découvre qu'une température de 50° empêche le développement des fermentations

anormales de ce liquide. Plus tard, il prouve qu'un chauffage dans ces conditions empêche l'aigrissement de la bière. C'est alors que cette méthode est utilisée pour la conservation des divers produits et en particulier du lait. Le lait est chauffé de quelques secondes à une heure à des températures comprises entre 60 et 85°.

En 1875, NAEGELI préconise le chauffage à 100-120 degrés du lait en bouteilles cachetées.

Plus tard, BACKER réduit la température à 70-75° afin d'éviter les altérations physico-chimiques.

1884 voit apparaître en Allemagne le premier appareil de pasteurisation avec THEIL. Le lait est porté dans cet appareil à 75° en passant sur une surface métallique chauffée intérieurement puis refroidie brusquement par un réfrigérant à glace à + 10°.

A la même époque, au Danemark, FJORD conçoit un appareil qui est l'ancêtre du pasteurisateur moderne.

Action de la température. — L'action de la température a pour effet la destruction de la majorité des bactéries, mais nous ne devons pas oublier :

1° L'importance du milieu dans lequel se trouvent les corps microbiens, milieu qui joue un rôle protecteur.

2° L'importance du temps de chauffage en relation avec la température.

3° La résistance de certaines espèces microbiennes à l'action de la chaleur, en particulier des formes sporulées et des bactéries thermophiles dont certaines sont encore capables de se développer à 75°.

Certaines bactéries pathogènes, et en particulier le bacille tuberculeux, sont parmi les espèces les plus résistantes.

De nombreuses recherches ont été effectuées à ce sujet.

Notons les travaux de SMITH en 1899, qui constate la destruction du bacille tuberculeux par un chauffage de 15 minutes à 60° ; de RUSSEL et HASTINGS en 1900, qui utilisent la température de 60° pendant 10 minutes mais recommandent toutefois une durée de chauffe de 20 minutes.

CAMERON et MACAULAY préconisent une température de 63 degrés pendant 30 minutes.

MATTICKS et HISCOX, en 1927, portent la température à 70-72° pendant onze secondes.

PIEN nous résume ses résultats dans le tableau suivant :

Le bacille tuberculeux est tué par un chauffage :

à 70°	pendant un temps de	onze à trente et une secondes,
à 71°	»	» de quinze secondes,
à 73°	»	» de une seconde quatre dixièmes,
à 60°	»	» de trente minutes,
à 65°	»	» de vingt minutes.

En fait, dans les méthodes actuelles de pasteurisation, le lait est porté :

Soit à 80/87° pendant 2 à 5 minutes (pasteurisation haute ;

Soit à 75° pendant quelques secondes (stassanisation).

Ces deux procédés sont les seuls utilisés dans notre région.

Une question se pose toutefois : puisqu'on veut un aliment dépourvu de germes pathogènes, pour quelles raisons ne pas utiliser la stérilisation ?

La stérilisation. — La stérilisation a pour but de détruire complètement la flore microbienne, d'où la nécessité de chauffer à des températures de 100/115° pendant 20 à 30 minutes.

Mais quelle sera l'action sur le lait de cette température élevée ?

Au point de vue physique, la stérilisation, par son chauffage prolongé à haute température, amène un léger brunissement dû à la destruction du lactose et un goût de « cuit » se fait sentir, quelquefois fort désagréable.

Mais ce sont surtout des modifications d'ordre chimique et biologique qui ont leur importance. En particulier la destruction de l'équilibre phosphatique qui joue un si grand rôle dans l'organisme ; la destruction de certaines diastases, des vitamines, principalement celles du groupe B et de la vitamine C.

K.-M. HENRY et S.-K. KON, étudiant la digestibilité des laits stérilisés et pasteurisés, trouvent peu de différence. Il n'en est pas de même de sa valeur nutritive qui est diminuée, ceci étant dû probablement à la destruction des amino acides.

Ces faits sont vérifiés par les expériences *in vivo* sur les rats pratiquées par le Rowett Research Institute d'Aleerden, au nord de l'Ecosse, et aux Etats-Unis à l'Institut des recherches laitières de Reading.

Toutefois, le lait stérilisé présente un intérêt car, d'une pureté bactériologique complète, il sera l'aliment des nouveau-nés. Il peut se conserver longtemps et subir des variations de température élevées, ce qui en fait son utilité dans les pays chauds.

Avantages de la pasteurisation. — A l'encontre de la stérilisation, la pasteurisation n'a aucune action destructive sur les éléments du lait.

Le lactose n'est pas transformé, le lait garde une saveur normale.

Les acides aminés ne sont pas détruits.

Les matières grasses ne sont pas altérées, seule la montée de la crème est diminuée et ralentie par suite de la division plus grande des globules gras qui deviennent plus nombreux et plus petits. Ce phénomène présente d'ailleurs un avantage en ce qui concerne la digestibilité.

L'équilibre P/Ca reste identique comme l'ont montré les expériences d'ELVEHJEM en 1941.

Toutefois les enzymes sont détruits par un chauffage à la température de la pasteurisation, fait sans importance d'après MARFAN, NOBECOURT et VESLOT.

Les vitamines même les plus fragiles se retrouvent dans le lait pasteurisé au même taux que dans le lait cru. C'est ainsi que A. ELVELJEN et S.-K. KON ne trouvent pas la quantité de vitamine A diminuée. En 1945, HOLMES vérifie la présence de la vitamine B₁ après un chauffage variant de 72 à 83°. Les résultats sont positifs.

Pour la vitamine C HOLMES, après une longue expérimentation, constate une diminution de 15 à 20 % pour le lait pasteurisé à basse température pendant un temps prolongé. Mais pour la pasteurisation à haute température pendant un temps réduit, aucune perte de vitamine C n'est constatée.

Développement de la pasteurisation. — Si les textes légaux concernant la pasteurisation datent de 1939, celle-ci n'a commencé à prendre son essor sur le plan industriel que quelques années après la fin de la guerre, vers 1947. A ce

moment apparaissent sur le marché les bouteilles de lait pasteurisé certifié.

1948 voit naître un programme d'investissement en matière d'industrie laitière. La même année, les coopératives reçoivent des crédits. En 1949, les entreprises privées sont admises à en bénéficier. Mais les journaux professionnels de cette époque nous disent « les conditions financières des prêts ont été l'obstacle majeur à la réalisation du programme d'investissement ».

En 1950, un nouveau programme s'établit en vue d'améliorer les chaînes continues de lait pasteurisé certifié en bouteilles :

1.080 millions sont destinés à la mise en place d'un matériel coûteux.

1.590 millions devront servir à l'équipement laitier de la ferme.

Grâce au Comité de Secours à l'Enfance, des facilités sont accordées pour l'achat du matériel en provenance surtout de la Suède, du Danemark et des Etats-Unis, qui pratiquent depuis longtemps déjà la pasteurisation.

En dehors de ces difficultés pratiques d'ordre financier, l'industrie laitière de la pasteurisation se heurte à des difficultés techniques de mise au point, longues et délicates.

Un dernier obstacle reste encore à franchir, il est représenté par le consommateur, qui a des habitudes profondément enracinées et demeure conservateur par nature. Il paraît quelque peu réticent devant l'apparition d'un produit d'un prix plus élevé et pour lui sans beaucoup d'avantages puisqu'il estime que voir « monter » son lait est une opération bien suffisante pour la destruction de tous les microbes.

Enfin un décret récent, mais qui n'a pas encore reçu d'application effective, tout au moins dans nos régions, prévoit pour les villes de 20.000 habitants et plus, la livraison exclusive en bouteilles de « lait pasteurisé certifié » à dater du 1^{er} janvier 1953.

La pasteurisation. — Sa technique. — Actuellement, les principales méthodes utilisées pour la pasteurisation du lait sont de trois sortes :

1° La *pasteurisation haute* ou méthode continue ;

méthode danoise, qui consiste à chauffer le lait 2 ou 3 minutes à 80/85°.

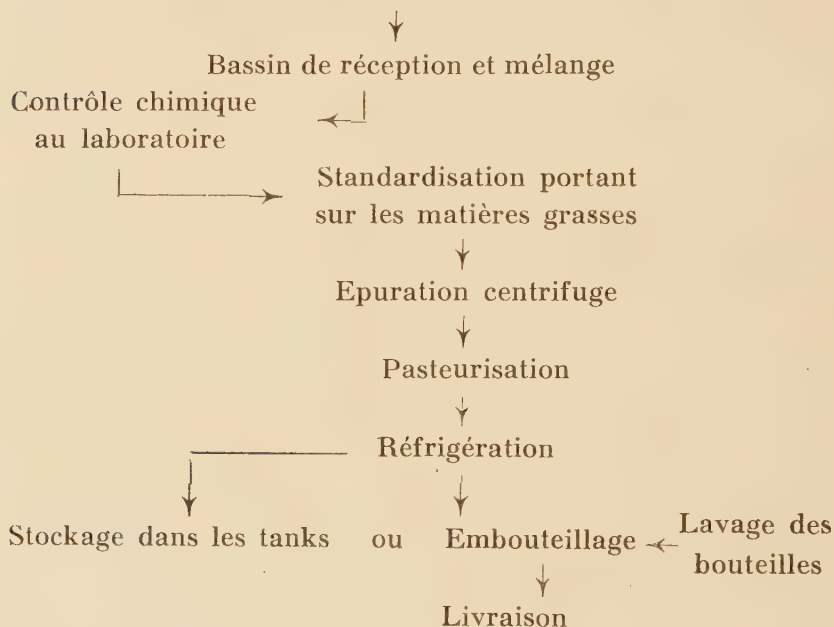
2° La *pasteurisation discontinue* ou *pasteurisation basse*, qui est une méthode américaine. Le lait est chauffé 30 minutes à 63°.

3° La *pasteurisation extra-rapide* ou *instantanée*. Le lait est chauffé en couche mince 15 ou 20 secondes à la température de 71/75°. Le procédé type est celui de STASSANO.

Après ce chauffage plus ou moins long, le lait doit être immédiatement refroidi à $+4^{\circ}$.

La chaîne du lait. — Nous traduirons par un schéma la chaîne du lait au stade de l'atelier de pasteurisation.

Arrivage du lait de ramassage en bidons ou en wagons citernes



Ces techniques sont trop courantes pour que nous les décrivions en détail, nous signalerons simplement quelques points intéressants.

1° Le lait avant son épuration centrifuge est envoyé dans le pasteurisateur. Il servira à refroidir celui qui vient d'être

pasteurisé et qui sort de la partie chaude de l'appareil. Il cèdera des frigories et au contact des plaques chaudes récupèrera des calories. Ce lait est donc utilisé comme échangeur de température. Il passe alors dans la centrifugeuse qui le débarrasse d'une grande partie d'impuretés. Le poids des débris de toutes sortes, qui se présentent alors sous l'aspect d'une masse pâteuse brunâtre, peut atteindre une dizaine de kilos pour 20.000 litres de lait.

2° Les canalisations et les appareils sont en acier inoxydable qui, outre de nombreux avantages, présente celui d'être parfaitement lisse, sans aucune rugosité ou anfractuosité qui puisse retenir des particules solides.

3° Les pasteurisateurs, pour la plupart, sont du modèle à plaques avec circulation d'eau chaude dans la première partie. La température enregistrée sur un graphique se maintient à 85/87°. La durée de passage est de 3 minutes. Le refroidissement est réalisé dans la deuxième partie du pasteurisateur par une saumure qui amène rapidement le lait à une température de + 2° à + 4°.

4° L'appareil de remplissage automatique des bouteilles est constitué par un bac central recevant aseptiquement le lait sortant du pasteurisateur et dont le débit est réglé par un système à flotteur.

Des tubes en nombre variable, suivant les appareils, plongent dans le bac et communiquent avec les tétines. Le remplissage se fait par aspiration sous vide léger.

Le capsulage automatique a lieu immédiatement après la sortie de la remplisseuse à l'aide de bandes d'aluminium embouties et serties sur le goulot de la bouteille.

5° Le transport des bouteilles pendant toutes les manipulations, depuis la laveuse jusqu'à la sortie de la machine à capsuler, se fait au moyen de tapis roulants.

Avec quelques variantes, ces techniques sont celles que nous avons pu voir réalisées chez la plupart des pasteurisateurs de la région.

Nous devons signaler toutefois des méthodes un peu différentes utilisées soit en France, soit à l'étranger.

Elles se distinguent surtout par les procédés d'épuration et de pasteurisation.

A. — *Epuration*. — Cette opération préliminaire de la pasteurisation est indispensable pour enlever toutes les matières solides en suspension dans le lait.

Cette opération se pratique :

Soit par filtration ;

Soit par centrifugation (suivant le procédé déjà envisagé) ;

Soit par une méthode récemment mise au point qui consiste en une filtration et centrifugation et qui est la turbo-filtration.

a) Filtration.

Elle consiste à faire passer le lait sur des tamis à grilles interchangeables, en généraél au nombre de deux, et entre lesquelles une étamine ou un tissu spécial à mailles très fines retient les impuretés. Cette méthode a été appliquée à l'usage industriel avec des appareils à grands débits. Ainsi furent construits les filtres Damrow et Silkelorg. Mais les tissus filtrants se colmatent et il est nécessaire de les changer, ce qui n'est pas toujours très commode et nécessite une perte de temps.

b) Turbo-filtration.

Cette méthode est une méthode combinée de filtration et de centrifugation. Le liquide, après centrifugation, passe à travers une membrane filtrante. La turbo-filtration éviterait le colmatage des filtres et rendrait l'épuration plus complète.

B. — *Pasteurisation*. — Si les méthodes de pasteurisation haute paraissent les plus utilisées en France, il n'en est pas de même à l'étranger et en particulier aux Etats-Unis. La pasteurisation basse paraît jouir d'une certaine faveur.

Le lait est chauffé trente minutes à 63°.

C'est en 1906 qu'à New-York un Français, Joseph WILMANN, construit le premier appareil et c'est à Strasbourg, en 1923, que la pasteurisation basse fut inaugurée.

Cette méthode comprend trois étapes :

1° Chauffage du lait à 63° ;

2° Maintien de cette température 30 minutes dans les cuves de garde ;

3° Réfrigération.

Les deux conditions techniques essentielles sont donc : atteindre la température de 63° et la maintenir constante. Ceci nécessite des appareils de contrôle de temps et de température. Les pasteurisateurs doivent présenter le moins de tubulures possible et leur nettoyage doit être facile.

Les Appareils.

1. — Les appareils à fonctions multiples.

Ils jouent à la fois le rôle de réchauffeur, chambreur et réfrigérant. Ceci est possible pour les petites entreprises traitant de faibles quantités de lait.

Ces appareils sont généralement constitués par un bac où le lait sera chauffé par de la vapeur circulant dans les parois. La température est maintenue 30 minutes et l'agitation du lait se fait grâce à un agitateur actionné par un moteur électrique. Le réfrigérant est quelquefois séparé et une pompe envoie le lait dans cet appareil.

Le pasteurisateur à serpentins est aussi utilisé. Il est constitué par une cuve métallique hémicylindrique qui est traversée de bout en bout par un serpentín dans lequel passe l'eau chaude ou la saumure suivant que l'appareil agit comme réchauffeur ou réfrigérateur.

2. — Appareils avec chambreurs séparés.

Ils sont utilisés lorsque les quantités de lait à traiter sont très importantes. L'appareil de chambrage se divise en général en 6 compartiments dont le remplissage, le maintien à température constante et la vidange se font automatiquement dans un ordre donné.

3. — Appareil à pasteurisation basse continue.

On a voulu rendre la pasteurisation basse continue en fabricant des chambreurs à chicanes à travers lesquelles circule le lait. La durée de circulation dans l'appareil doit être de 30 minutes. Mais des particules peuvent circuler plus ou moins vite que d'autres et les résultats obtenus ne paraissent pas être très satisfaisants.

À côté de la pasteurisation basse, une autre méthode est également utilisée, il s'agit de la *pasteurisation instantanée*.

Elle se fait par chauffage à une température élevée,

pendant un temps très court, le lait circulant en couche mince entre deux parois chaudes.

L'appareil le plus usité à cet effet est l'appareil de STASSANO, dans lequel l'épaisseur de la couche de lait est de 1 millimètre au plus.

Suivant STASSANO, en effet, les microbes sont attirés par une sorte d'adhésion capillaire, exercée par les parois chaudes.

Les premiers appareils de STASSANO étaient formés par un cylindre de 3 mètres de long et de 35 cm. de large, à l'intérieur duquel 4 doubles tubes communiquant entre eux aux extrémités permettaient le passage du lait en couche annulaire qui est ainsi chauffé par les parois interne et externe à la température de 75°. Le lait parcourt 10 mètres en 15 secondes.

Mais ce pasteurisateur primitif, encombrant, a été perfectionné. En 1937, un nouveau modèle, d'un volume plus réduit, a été conçu :

1° Le pasteurisateur est formé de plusieurs éléments STASSANO de 1 mètre ;

2° Le chauffage et le refroidissement sont réalisés par des échangeurs de température à plaques et non plus tubulaires.

La couche de lait est chauffée par deux minces couches d'eau circulant à contre-courant.

Remplissages des bouteilles.

Il se fait par des procédés analogues à celui que nous avons vu précédemment, toutefois nous devons signaler le remplissage à l'aide de bécans à clapets.

Le système de remplissage automatique des bouteilles nous paraît un élément de toute première importance dans la chaîne du lait.

Comme nous le signalerons en effet plus loin, c'est surtout au niveau de cet appareil que nous avons pu relever les causes les plus fréquentes de pollution.

Il est incontestablement le plus délicat à nettoyer d'une façon parfaite car il présente inévitablement des coudes et surtout des joints en caoutchouc. Un effort doit donc être tenté à notre avis pour le perfectionnement et la simplification de cette pièce essentielle.

CHAPITRE III

MICROBIOLOGIE DU LAIT

Le lait recueilli d'une façon aseptique chez un animal sain n'est pas stérile. Il héberge toujours une flore microbienne qui est normale à ce liquide et qui provient de l'animal lui-même (glande mammaire, canal du trayon et élimination par cette voie de germes provenant du milieu intérieur). C'est donc une flore principalement endogène.

Mais ces conditions de traite aseptique dans une atmosphère exempte de microbes sont irréalisables en pratique et dans les circonstances même les plus favorables d'hygiène de l'étable, le lait est toujours pollué par une flore saprophyte qui provient de l'air, de l'animal, du matériel et du trayeur lui-même : microbes, levures et champignons inférieurs.

Dans certains cas, outre cette flore banale le lait peut être pollué par des microbes pathogènes provenant de l'animal malade et dont beaucoup sont des agents infectieux pour l'homme : c'est la flore pathogène endogène.

Dans d'autres enfin, le lait peut être pollué par des microbes pathogènes apportés par le matériel, les individus qui le manipulent ou des parasites qui en sont les vecteurs : il s'agit alors d'une flore pathogène exogène.

Nous étudierons donc :

- 1° La flore normale du lait ;
- 2° La flore saprophyte de pollution ;
- 3° La flore pathogène d'origine endogène ;
- 4° La flore pathogène d'origine exogène.

I. - La Flore Normale du Lait

Elle est presque exclusivement représentée par la flore lactique. Etant donné son importance non seulement dans l'industrie du lait et de ses dérivés, mais encore dans les industries alimentaires et de fermentation, nous nous attardons plus longuement à son sujet.

Les « ferments » lactiques appartiennent à la famille des *Lactobacteriaceæ*.

Leur étude extrêmement complexe a été entreprise par de nombreux auteurs au premier plan desquels il faut citer Orla JENSEN qui, dès 1924, donna non seulement le nom à la famille mais encore établit une classification. Cet auteur proposa plusieurs nouvelles dénominations génériques et suggéra aussi la distinction en espèces *homofermentatives* et *hétérofermentatives*, termes sur lesquels nous reviendrons plus loin.

Depuis une dizaine d'années, des recherches précieuses ont été effectuées sur le rôle des vitamines et des acides aminés dans la nutrition et la physiologie des bactéries lactiques.

Des notions fondamentales de valeur générale ont pu être apportées en ce qui concerne le métabolisme des formes supérieures de la vie et particulièrement de l'homme.

Les bactéries lactiques tirent leur énergie de la fermentation des glucides par voie anaérobie et suivant les espèces cette dégradation conduit à des substances qualitativement et quantitativement différentes.

Les espèces *homofermentatives* produisent surtout de l'acide lactique (80 à 95 % du poids de l'hexose) et de petites quantités de CO_2 et d'acide acétique.

Lorsqu'il s'agit d'un pentose il se produit des quantités équimoléculaires d'acide lactique et d'acide acétique.

Les espèces *hétérofermentatives* convertissent jusqu'à 50 % de glucose en acide lactique, 20 à 25 % en CO_2 et 20 à 25 % en alcool et acide acétique.

Notons que le lévulose est partiellement transformé en mannitol et que certaines souches sont capables de dégrader ce sucre.

Etude des processus homo et hétérofermentatifs.

La fermentation lactique est une fermentation anoxydative peu énergétique en effet :



La dégradation du glucose que nous prendrons comme

exemple comporte plusieurs étapes sur lesquelles il nous paraît nécessaire d'apporter quelques précisions.

Nous distinguerons les principales :

1° Phosphorylation ;

2° Clivage et phosphorylation ;

3° Phase d'oxydo-réduction avec intervention de la cozymase.

1° *Phosphorylation.*

Le premier stade du métabolisme du glucose consiste en une double phosphorylation qui le transforme successivement en glucose monophosphate, fructose monophosphate et fructose diphosphate (esters de CORI, ROBISON, NEUBERG et HARDEN-YOUNG).

La substance qui joue le rôle de donateur de phosphore est l'ATP (acide adényl-pyrophosphorique) capable d'accepter d'autre part le phosphore libéré dans la suite des réactions et ainsi de se régénérer.

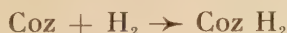
Cet ATP est apporté par la cellule microbienne. Son taux augmente donc avec la croissance de la bactérie.

2° *Clivage et phosphorylation.*

La molécule en C_6 ainsi phosphorylée subit facilement une rupture sous l'action de la zymohexase et se transforme en 2 molécules en C_3 qui sont deux triosephosphates : glycéraldéhyde monophosphate et dihydroxycétone monophosphate. Seul le premier de ces corps possédant une fonction aldéhyde peut être estérifié à nouveau par $PO_4 H_3$ (ATP), réalisant une seconde phosphorylation qui le transforme en diphosphoglycéraldéhyde.

3° *Intervention de la cozymase (Coz).*

Cet enzyme agissant comme accepteur d'H oxyde la molécule de diphosphoglycéraldéhyde :



et cette molécule instable transfère facilement l'ion phosphorique fixé sur la fonction aldéhyde en donnant de l'acide diphosphoglycérique. Ce dernier corps perd facilement l'un de ses deux ions phosphorique qui est restitué au donateur

(ADP $\rightarrow$ ATP) et il prend alors naissance 2 acides : 2 et 3 monophosphoriques.

Ces deux isomères en présence l'un de l'autre donnent une réaction réversible qui aboutit à un état d'équilibre.

Une émolase transforme alors l'acide 2 phosphoglycérique en acide phosphopyruvique qui, restituant son ion phosphorique au donateur, donne l'acide pyruvique, plaque tournante du métabolisme intermédiaire. La dihydrocozymase (Coz H_2) cède alors ses H à l'acide pyruvique qui se transforme en acide lactique tandis que la cozymase (Coz) retourne dans le cycle pour s'hydrogéner à nouveau au contact de la diphosphoglyceraldéhyde.



Cette voie est la voie principale qui conduit à l'acide lactique. Cependant un processus accessoire peut être utilisé. C'est ainsi que :

A. — 2 molécules de diphosphoglyceraldéhyde peuvent s'unir et donner naissance par une réaction de Cannizaro à 1 molécule d'acide phospho 3 glycérique qui entre dans le cycle normal et 1 molécule d'acide α glycérophosphorique.

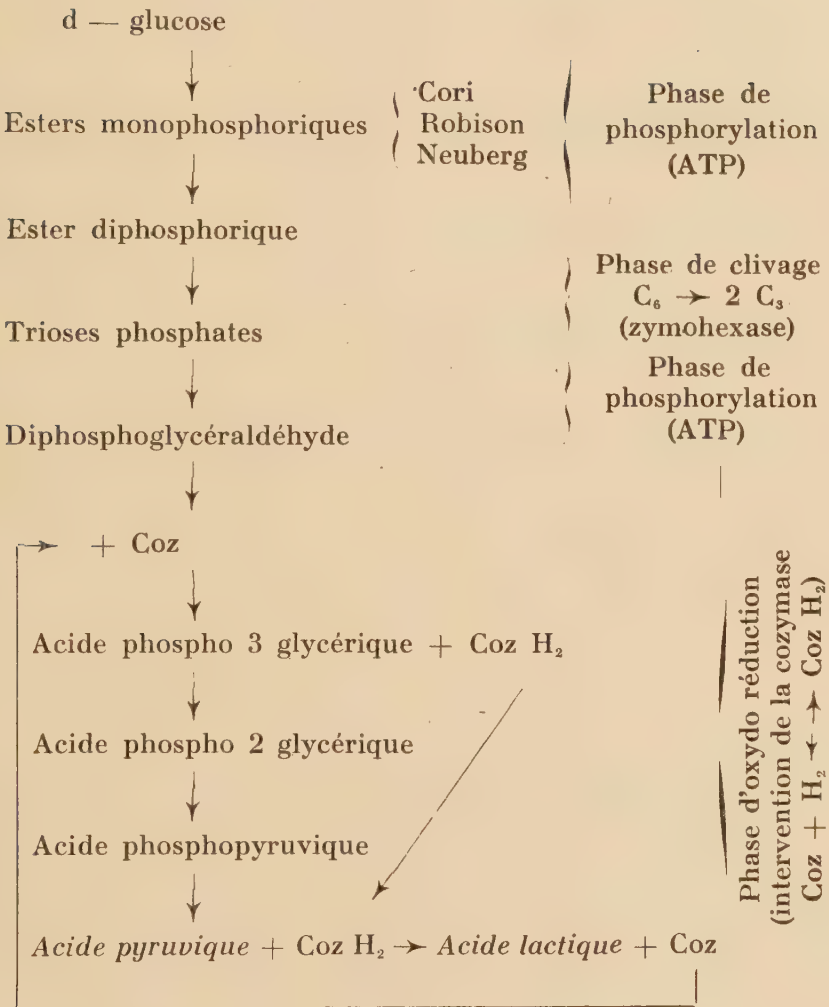
B. — L'acide pyruvique réagissant avec l'acide α glycérophosphorique ainsi formé donne de l'acide lactique et de l'acide phospho 3 glycérique qui entre à nouveau dans la voie directe.

Nous essayons de représenter dans les schémas suivants :

- a) La voie essentielle ;
 - b) Le processus accessoire.
-

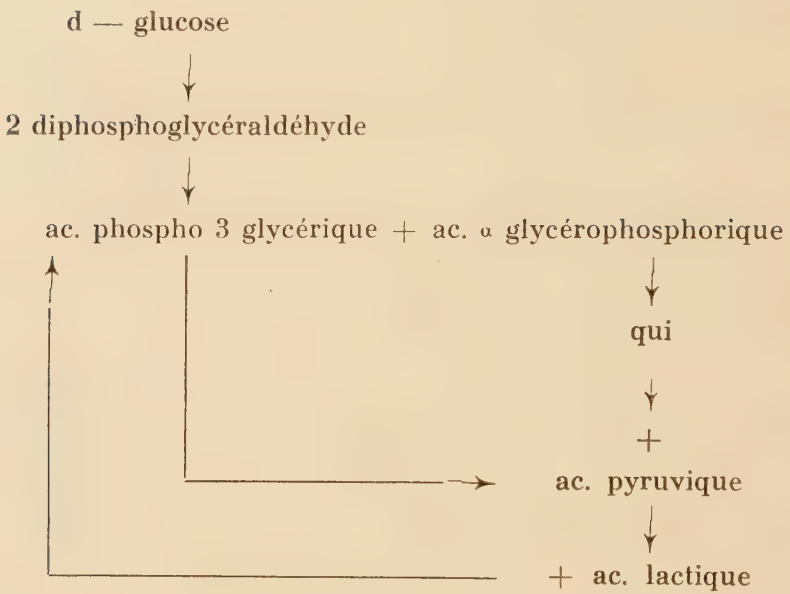
I. - Homofermentation

(voie essentielle)

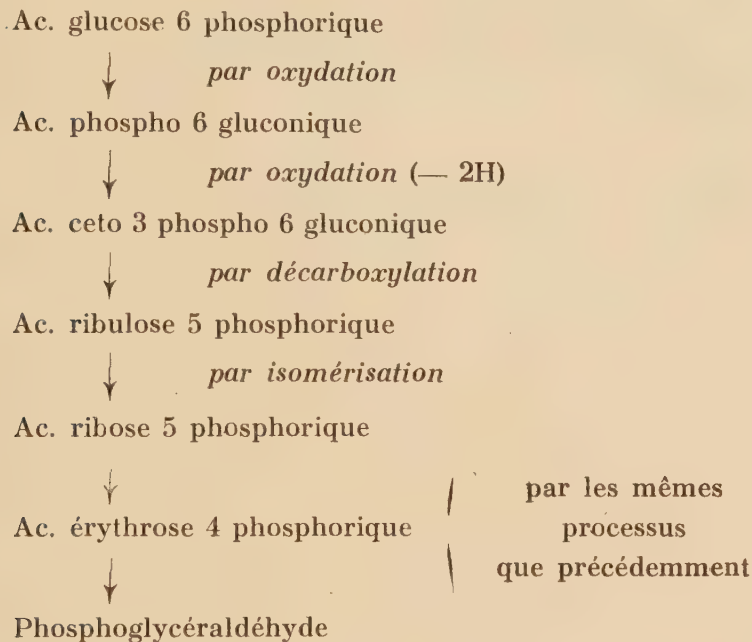


II. - Homofermentation

(voie accessoire)



Signalons enfin que d'après les recherches récentes de WARBURG, LIPMANN et DICKENS, une autre voie de dégradation oxydative des glucides est possible qui conduirait de l'ester de Robison à la phosphoglyceraldéhyde. Nous schématisons les étapes de la réaction.



Les processus *hétérofermentatifs* conduisent aussi à la production d'acide lactique suivant les modalités étudiées mais en proportion moins importante et de plus des corps secondaires sont formés. A la fermentation lactique s'associent les fermentations éthylique et acétonoglycérolique.

Outre l'acide lactique, les principaux composés qui prennent naissance sont :

alcool éthylique,
acide acétique,
acide butyrique,
acide propionique,
CO₂,

et glycérol aux dépens de l'acide α glycérophosphorique (en milieu alcalin). (S'il s'agit de fructose au lieu de glucose, il se produit de la mannite au lieu de glycérine.)

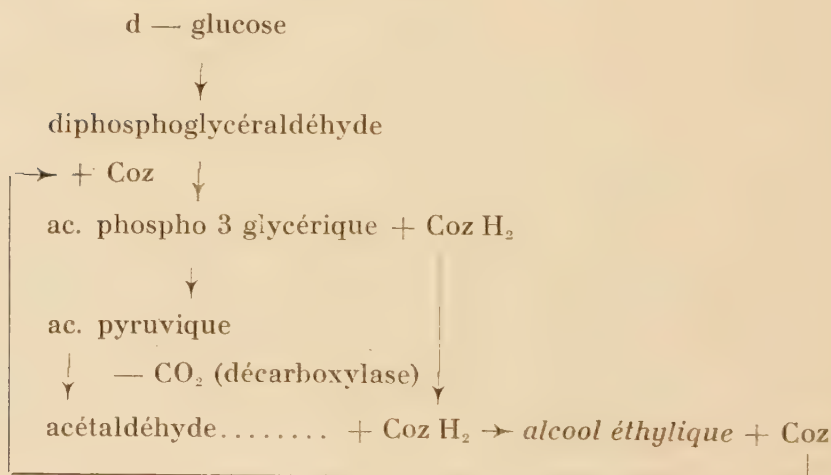
L'acide pyruvique subit une décarboxylation qui le transforme en acétaldéhyde (décarboxylase de Neuberg) et l'acétaldéhyde en présence de dihydrocozymase (Coz H_2) donne naissance à l'alcool éthylique (ferments bulgares du Képhir) et l'enzyme ayant donné H_2 rentre dans le cycle pour s'hydrogéner à nouveau en présence de diphosphoglycéraldéhyde.

Ces produits secondaires sont les principaux mais non les seuls et nous ne devons pas oublier le rôle des bactéries lactiques en brasserie, distillerie, levurerie et sucrerie.

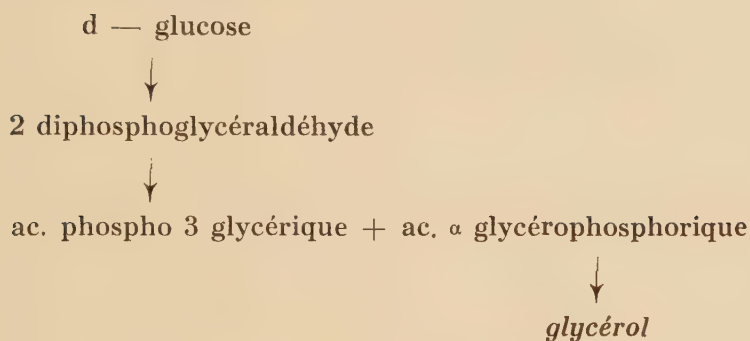
Certains de ces sous-produits sont éminemment favorables, alors que d'autres sont nuisibles.

Nous schématisons dans les tableaux suivants les principales modalités des processus hétérofermentatifs :

I. - Formation d'alcool éthylique.

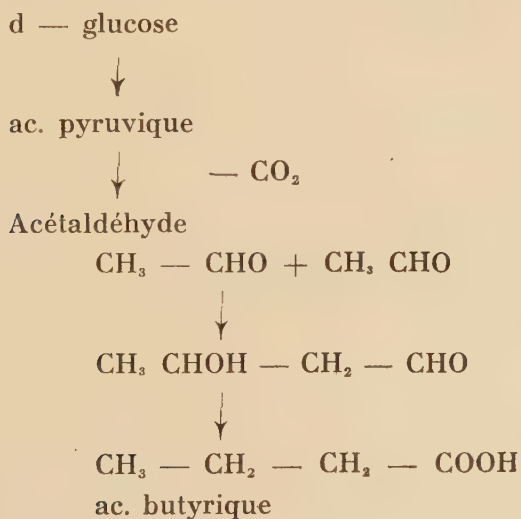


II. - Formation de glycérol.



III. - Formation d'acide butyrique.

(une des modalités)



IV. - Formation d'acide acétique.

(d'après la réaction phosphoroclastique de UTTER et LIPMANN)

d — glucose



ac. pyruvique



V. - Formation d'acide propionique, acétique et CO_2 .

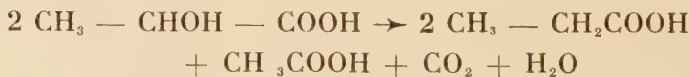
d — glucose



ac. pyruvique



ac. lactique



ou bien

ac. pyruvique



LES BACTERIES LACTIQUES

Il nous paraît utile de fournir une classification des bactéries lactiques. Celle que nous reproduisons, ainsi que les indications sur leurs caractères généraux, est extraite du « *Bergey's manual of determinative bacteriology* ».

Nous soulignons dans cette classification les Lactobactériacées qui intéressent plus particulièrement l'industrie laitière.

La famille des *Lactobacteriaceæ* est représentée par des bacilles longs ou courts, ou des cocci qui se divisent comme les bâtonnets sur un plan seulement, produisant des chaînettes, mais jamais de tétrades ou d'amas. Ils sont immobiles, excepté pour certaines cultures de streptocoques. Gram +. La production de pigments est rare, sauf quelques espèces seulement qui produisent un pigment jaune orange, rouge ou brun rouillé.

Le développement en surface est pauvre ou nul, et quelques espèces sont strictement anaérobies.

Les hydrates de carbone sont indispensables pour un bon développement. Ils sont fermentés en produisant de l'acide lactique accompagné quelquefois d'acides volatils, alcool et CO₂ comme sous-produit (signalons toutefois *Diplococcus magnus* qui ne fermente pas).

La gélatine est rarement liquéfiée ; les nitrates ne sont pas réduits en nitrites.

On les trouve régulièrement dans la bouche et le tractus intestinal de l'homme et des animaux, les produits de laiterie et les jus de fruits fermentés. Quelques-uns seulement sont très pathogènes.

Sont nuisibles dans l'industrie les espèces qui dégagent une quantité de gaz et peuvent donner naissance à des substances aromatiques, en particulier acétyl-méthyl-carbinol et diacétyle.

La famille des *Lactobacteriaceæ* est divisée en deux tribus :

I. — Tribu I *Streptococceæ* :

Cocci isolés par paires ou en chaînettes.

II. — Tribu II *Lactobacilleæ* :

Bâtonnets isolés, par paires, ou en chaînettes. Les cellules isolées peuvent être longues ou filamenteuses.

Tribu I. - Streptococceae

Genre I *Diplococcus*.

Genre II *Streptococcus*.

Genre III *Leuconostoc*.

Seuls retiendront notre attention les genres II et III.

Genre II. Streptococcus

1° *Aérobies anaérobies facultatifs*.

A) Groupe Pyogenes :

Lactose +	{	Str. pyogenes	Groupe A	Lancefield
ac. d. lactique		Str. zooepidemicus	»	C »
Lactose + ou —	{	Str. equi	Groupe C	Lancefield
		Str. equisimilis ...	»	C »
		Str. agalactiæ	»	B »

B) Groupe Viridans :

Lactose +	{	Str. salivarius		
		Str. nutis		
		Str. bovis		
		Str. thermophilus	(Température de croissance : 50°)	

Lactose — ; Str. equinus

C) Groupe lactique :

Str. lactis

Str. cremoris

D) Groupe entérocoque :

Str. faecalis

Str. liquefaciens

Str. zymogenes

Str. durans

2° Anaérobies.

Stricts	Str. anaerobius	} gaz + odeur fétide
	Str. foetidus	
	Str. putridus	
	Str. lanceolatus	
	Str. micros	} gaz = 0 pas d'odeur fétide
	Str. parvulus	
	Str. intermedius	

3° Micro-aérophile :

Str. evolutus

Genre III. *Leuconostoc*.

Hétérofermentatif

<i>L. mesenteroides</i>	(<i>Betaccocus</i> d'Orla JENSEN) Peu
<i>L. dextranicum</i>	d'ac. lactique et acétique.
<i>L. citrovorum</i>	Alcool, CO ₂ , acide lactique l. ou d.

Tribu II. - *Lactobacilleae*

Généralement microaérophiles ou anaérobies.

Hydrates de C et polyalcools

homofermentation

} ac. lactique

hétérofermentation

ac. lactique

ac. acétique

ac. propionique

ac. butyrique

alcool

CO₂

Genre I *Lactobacillus* microaérophile ; catalase —

Genre II *Microbacterium* aérobie ; catalase +

Genre III *Propionibacterium* catalase +

Hydrate de C	}	→	ac. propionique ac. acétique + CO ₂
Polyalcool			
Ac. lactique			

GENRE IV BUTYRIBACTERIUM.

Hydrate de C	}	→	ac. butyrique ac. acétique + CO ₂
Polyalcool			
Ac. lactique			

GENRE I LACTOBACILLUS

1° *Homofermentatif*

(produisent seulement des traces de sous-produits).

A) Sous-genre *Thermobacterium* d'Orla JENSEN :

Lactose → acide +	<table border="0"> <tr> <td><i>L. caucasicus</i></td> <td rowspan="2">}</td> <td rowspan="2">ac. lactique l.</td> </tr> <tr> <td><i>L. lactis</i></td> </tr> <tr> <td></td> <td> <table border="0"> <tr> <td><i>L. Helveticus</i></td> <td rowspan="5">}</td> <td rowspan="5">ac. lactique d ou inactif</td> </tr> <tr> <td><i>L. acidophilus</i></td> </tr> <tr> <td><i>L. bifidus</i> . . .</td> </tr> <tr> <td><i>L. bulgaricus</i></td> </tr> <tr> <td><i>L. thermopilus</i></td> </tr> </table> </td> </tr> </table>	<i>L. caucasicus</i>	}	ac. lactique l.	<i>L. lactis</i>		<table border="0"> <tr> <td><i>L. Helveticus</i></td> <td rowspan="5">}</td> <td rowspan="5">ac. lactique d ou inactif</td> </tr> <tr> <td><i>L. acidophilus</i></td> </tr> <tr> <td><i>L. bifidus</i> . . .</td> </tr> <tr> <td><i>L. bulgaricus</i></td> </tr> <tr> <td><i>L. thermopilus</i></td> </tr> </table>	<i>L. Helveticus</i>	}	ac. lactique d ou inactif	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. bifidus</i> . . .	<i>L. bulgaricus</i>	<i>L. thermopilus</i>
<i>L. caucasicus</i>	}	ac. lactique l.												
<i>L. lactis</i>														
	<table border="0"> <tr> <td><i>L. Helveticus</i></td> <td rowspan="5">}</td> <td rowspan="5">ac. lactique d ou inactif</td> </tr> <tr> <td><i>L. acidophilus</i></td> </tr> <tr> <td><i>L. bifidus</i> . . .</td> </tr> <tr> <td><i>L. bulgaricus</i></td> </tr> <tr> <td><i>L. thermopilus</i></td> </tr> </table>	<i>L. Helveticus</i>	}	ac. lactique d ou inactif	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. bifidus</i> . . .	<i>L. bulgaricus</i>	<i>L. thermopilus</i>						
<i>L. Helveticus</i>	}	ac. lactique d ou inactif												
<i>L. acidophilus</i>														
<i>L. bifidus</i> . . .														
<i>L. bulgaricus</i>														
<i>L. thermopilus</i>														

Lactose → acide = 0 *L. delbrueckii*

B) Sous-genre *Streptobacterium* d'Orla JENSEN :

Lactose → acide +	<table border="0"> <tr> <td><i>L. casei</i> →</td> <td>ac. lactique d</td> </tr> <tr> <td><i>L. plantarum</i> →</td> <td>ac. lactique inactif</td> </tr> </table>	<i>L. casei</i> →	ac. lactique d	<i>L. plantarum</i> →	ac. lactique inactif
<i>L. casei</i> →	ac. lactique d				
<i>L. plantarum</i> →	ac. lactique inactif				

Lactose → acide = 0 *L. leichmanii*

2° *Hétérofermentatif*.

Sous-genre *Betabacterium* d'Orla JENSEN :

Lactose généralement non fermenté *L. brevis*

Lactose fermenté	<table border="0"> <tr> <td><i>L. Buchneri</i></td> </tr> <tr> <td><i>L. Pastorianus</i></td> </tr> <tr> <td><i>L. fermenti</i></td> </tr> </table>	<i>L. Buchneri</i>	<i>L. Pastorianus</i>	<i>L. fermenti</i>
<i>L. Buchneri</i>				
<i>L. Pastorianus</i>				
<i>L. fermenti</i>				

GENRE II MICROBACTERIUM

Hydrates de carbone → ac. lactique sans gaz.

M. lacticum .. Thermorésistant 2 min. 1/2 à 85°

M. flavum ... » 2 min. 1/2 à 71°6

GENRE III PROPIONIBACTERIUM

P. freudenreichii \ Streptococciformes

P. shermanii .. / en milieu extrait de levure-glucose

P. rubrum \ Bacilles courts

P. thæni / diphtérimorphes

P. zeæ

P. peterssonii

P. jensenii

P. raffinosaceum

P. technicum

P. arabinosum . \ Formes très irrégulières

P. pentosaceum / apparence d'involutions

GENRE IV BUTYRIBACTERIUM

B. rettgeri

Dans cette importante famille, le genre *Streptococcus* est certainement le mieux connu parce qu'il renferme des espèces pathogènes pour l'homme et les animaux.

Quant aux autres, tous les auteurs ne sont pas d'accord pour une classification uniforme et il sera nécessaire, comme l'indique Carl-S. PEDERSON, d'effectuer des recherches pour montrer les relations qui peuvent exister entre les classifications basées sur les réactions de fermentation, celles basées sur les modifications par culture sur milieux au sang et enfin celles basées sur la structure antigénique.

Importance des bactéries lactiques.

Elles jouent dans certaines industries un rôle prépondérant, qui peut être utile mais quelquefois nuisible.

a) *Maturation des fromages*. — Dans les fromages à pâte molle, les bactéries lactiques réalisent la première phase

d'acidification. Pour les pâtes dures, une seule phase existe consistant en une fermentation lactique et propionique.

b) *Laits fermentés*. — Yoghourt, dans la production duquel interviennent *L. bulgaricus* et *Str. thermophilus*.

Képhir, pour lequel la fermentation lactique est associée à la fermentation alcoolique.

c) *Brasserie*. — Les ferments lactiques sont utilisés pour l'acidification des moûts ou la production de substances aromatiques.

L. Delbrueckii est surtout employé. Certains comme *L. pastorianus* sont au contraire nuisibles.

d) *Viandes fermentées*. — Les bactéries lactiques jouent en général un rôle sinon indispensable tout au moins favorable pour obtenir le développement du parfum caractéristique de certaines préparations (saucisses, jambons, etc.).

Cependant certaines espèces sont capables de causer de graves dommages en altérant la couleur rouge de la viande et lui communiquant une teinte vert pâle. Ces micro-organismes se développent particulièrement bien sur les jambons et la charcuterie en général. Ils tolèrent bien le sel, poussent à température basse et produisent du peroxyde d'hydrogène qui réagit sur les pigments sanguins.

e) *Sucrierie*. — Il s'agit surtout de bactéries lactiques nuisibles du genre *Leuconostoc* qui produisent la « gomme ».

f) *Industrie des acides lactiques*. — L'acide lactique de fermentation est produit industriellement en utilisant comme matière première soit du saccharose raffiné, brut ou sous forme de jus de betterave, soit des matières amylacées saccharifiées au préalable.

g) *Ensilage*. — La conservation en silo, à l'abri de l'air de fourrages verts peut être réalisée en enrichissant la masse en bactéries lactiques, en particulier *L. plantarum*.

h) *Distillerie*. — On utilise *L. delbrueckii* pour réaliser une préfermentation du milieu. Lorsque le moût a atteint un pH désiré, on détruit le germe par la chaleur et on enseme avec la levure. La croissance de celle-ci est favorisée par ce traitement préalable.

i) *Industrie des jus de fruits.* — Certaines bactéries lactiques peuvent leur faire subir de lourdes pertes lorsqu'elles viennent polluer les jus pendant la concentration. Ce sont, d'après HAYS, essentiellement : *L. brevis*, *L. plantarum* var. *mobilis* et certaines espèces de *Leuconostoc*. Une odeur butyrique apparaît alors qui semble résulter de la production de diacétyle.

II. — La flore saprophyte de pollution

Ces bactéries appartenant à des espèces très variées viennent souiller le lait au moment de la traite ou après celle-ci. Elles peuvent avoir une origine endogène si elles proviennent de l'animal et sont éliminées par la glande mammaire, ou bien une origine exogène si elles sont apportées par le trayon, les mains du trayeur, les ustensiles laitiers, l'eau ou l'atmosphère au cours des différentes manipulations.

Ces bactéries sont innombrables et même dans des conditions parfaites d'hygiène viennent ensemençer le lait qui représente, pour la plupart, un excellent milieu de culture.

Elles se rencontrent donc presque aussi fréquemment que la flore normale et leur développement extrêmement rapide assure une contamination massive du lait.

Nombreuses sont les espèces sporulées qui résistent ainsi à l'action ultérieure de la température au moment de la pasteurisation.

Ces bactéries, au cours de leur croissance, utilisent comme aliment les substances glucidiques, lipidiques ou protidiques contenues en grande abondance dans le lait, les transforment au cours de leur métabolisme pour donner naissance à des produits de dégradation nuisibles.

Les principales espèces que nous devons signaler sont :

LES ENTÉROCOQUES (*Str. faecalis*, *Str. liquefaciens*, *Str. zymogenes*, *Str. durans*), qui siègent dans le tube digestif de l'homme et des animaux et leurs cavités naturelles, en particulier la cavité vaginale.

A côté de ces espèces aérobies existent de nombreuses espèces anaérobies ou microaérophiles qui ont la même origine.

LES STAPHYLOCOQUES. — Très répandus dans le milieu extérieur : poussières, pelage des animaux, peau et muqueuse et dans les eaux. Il en existe plusieurs variétés qui diffèrent essentiellement par la pigmentation de leurs colonies. La variété albus est certainement la plus répandue comme espèce saprophyte.

LES PROTEUS, appartenant à la famille des *Entérobactériaceae*, sont aussi extrêmement fréquents dans la nature. On les trouve dans le sol, les eaux polluées, le fumier, les matières fécales. Ils coagulent le lait et sont protéolytiques.

Certaines espèces : *Proteus vulgaris*, *P. morganii*, *P. rettgeri*, produisent de l'indol aux dépens du tryptophane alors que *P. mirabilis* n'en produit pas.

De nombreuses espèces appartenant au genre *Bacillus* sont des saprophytes très répandus dans l'air, le sol, les eaux, les fourrages. La plupart sont mésophiles, se développent bien à 30°, aérobies et surtout sporulées. Les principaux représentants sont : *B. subtilis*, *B. coagulans*, *B. megatherium*, *B. vulgatus*, *B. mycoides*.

D'autres sont anaérobies et proviennent soit de l'intestin, soit du milieu extérieur ; ils appartiennent à la famille des *Bacillaceae* genre *Clostridium*. Leur très grand nombre nous interdit de les énumérer.

La famille des *Pseudomonadaceae* fournit aussi de très nombreux représentants qui sont les hôtes habituels des eaux ; certaines espèces sont pathogènes pour l'homme, les animaux et les plantes.

Le genre *pseudomonas* a pour chef de file : *P. aeruginosa*.

La tribu des *Eschericheae*, divisée en trois genres : *Escherichia*, *Aerobacter*, *Klebsiella*, comprend un très grand nombre de microorganismes saprophytes, dont certains peuvent présenter dans certaines circonstances un pouvoir pathogène plus ou moins marqué. Leur habitat est le même. On les trouve essentiellement dans l'intestin, les matières fécales et le fumier, mais aussi dans les eaux, le sol et l'air.

Le genre *Escherichia*, en particulier avec son principal représentant *E. coli*, comprend une grande variété de types ayant des caractères voisins auxquels il convient d'ajouter le groupe des para-coli qui présentent des traits de ressem-

blance avec d'autres entérobactéries : *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, dont ils sont quelquefois difficiles à distinguer.

La famille des *Mycobacteriaceae* renferme, à côté de quelques espèces éminemment pathogènes comme les bacilles tuberculeux ou le bacille de la lèpre, un grand nombre de bactéries saprophytes dont l'inventaire a été réalisé par Hauduroy.

Ces germes, pour la plupart acido-alcooloo résistants, se rencontrent un peu partout dans la nature. Outre les produits pathologiques dans lesquels on peut les mettre en évidence, on les trouve dans la terre, les matières fécales, les poussières, sur les graminées, les légumes, les fruits, dans les eaux, à l'embouchure des trompettes et sur certains insectes comme les mouches.

Ils se développent en général facilement sur les milieux ordinaires et se montrent dépourvus de pouvoir pathogène pour l'animal.

Citons au passage, parmi les 160 bacilles décrits par Hauduroy : *M. phlei*, bacille de la frole, ou *Timothee bacillus*, retrouvé sur divers végétaux ;

M. stercusis ou *Mist bacillus* : le bacille du fumier ;

M. aquae, trouvé dans le produit de raclage des robinets ;

M. smegmatis, vu dans des sécrétions diverses de la peau et des muqueuses, dans le sillon balano préputial et au niveau de l'anus chez les sujets sains.

Ce sont ces bacilles essentiellement saprophytes qui rendent la recherche du bacille tuberculeux dans le lait éminemment délicate et imprécise, car leur découverte à l'examen direct ne suffit pas et il est nécessaire de procéder à une identification exacte toujours longue.

Outre les bactéries, nous devons signaler d'autres agents de pollution saprophytes : les levures et les moisissures, qui ne rentrent pas dans le cadre de notre sujet.

III. - LA FLORE PATHOGENE D'ORIGINE ENDOGENE

Elle est constituée par des bactéries ou des virus, pathogènes à la fois pour l'animal et l'homme.

Le lait se contamine le plus souvent dans la glande mammaire elle-même, qui est un véritable émonctoire.

Les principales affections à redouter ont pour agents :

Mycobacterium tuberculosis bovis,
Les *Brucella*,
Les streptocoques, agents de la mammite,
Les staphylocoques,
Les *Salmonella*,
Le virus aphteux.

LA TUBERCULOSE est une maladie extrêmement répandue chez les bovidés et particulièrement les vaches laitières qui séjournent à l'étable et sont dans un état de moindre résistance par suite de gestation et de lactation.

La plupart des statistiques françaises ou étrangères montrent que la proportion de vaches laitières tuberculisées (c'est-à-dire réagissant à la tuberculine) est environ de 30 à 40 %.

Si tous ces animaux ne présentent pas une tuberculose évolutive, il n'en est pas moins vrai que le pourcentage d'animaux contaminés est élevé. Or, la variété bovine du bacille tuberculeux, comme l'ont montré depuis fort longtemps de nombreux auteurs, est pathogène pour l'homme.

La contamination est réalisable par voie digestive et les enfants, surtout les nourrissons, se montrent particulièrement sensibles.

Des mesures d'hygiène sévères doivent être prises, consistant surtout dans le dépistage des animaux malades, la surveillance vétérinaire de ceux réagissant à la tuberculine et l'élimination systématique de tout animal suspect.

LES BRUCELLOSES : *Brucella abortus* et *Br. melitensis*, sont les agents pathogènes de l'avortement épizootique des bovins ou maladie de Bang.

C'est une infection septicémique à évolution lente dont la forme inapparente est fréquente, réalisant ainsi chez les animaux un réservoir de virus.

LES STREPTOCOQUES. — *Streptococcus agalactiæ* est l'agent le plus fréquent de la mammite chez la vache.

Ce germe appartient au groupe B de la classification sérologique de Lancefield. Il a été établi que ce microorganisme pouvait être l'agent d'infections streptococciques humaines :

angines, érysipèle, méningites, septicémies, phlegmons, otites, abcès divers, entérites.

LE STAPHYLOCOQUE, avec ses trois variétés : *St. pyogenes aureus*, *citreus*, *albus*, est le pyogène par excellence. Il peut donc être l'agent de nombreuses suppurations du revêtement cutané ou du tissu conjonctif et engendrer des septicémies primitives et secondaires.

D'autre part, certaines espèces pathogènes élaborent une toxine douée de propriétés nécrosantes, léthales et hémolytiques. Enfin et surtout, certaines souches produisent une entérotoxine responsable de troubles gastro-intestinaux chez l'homme.

Cette toxine entérotrope mise en évidence par Jordan et Dack, est distincte des hémolysines α et β . Elle résiste à la température de 95° pendant trente minutes.

L'étude du pouvoir pathogène expérimental est réalisée chez le jeune chat par injection intrapéritonéale de filtrat de culture.

LES SALMONELLA. — Certains types sont les agents de toxoinfections chez l'animal et sont capables de provoquer chez l'homme des maladies d'allure typhoïdique, des intoxications et des gastro-entérites aiguës.

La contamination du lait peut se faire vraisemblablement soit par élimination au niveau de la glande mammaire des germes apportés par voie sanguine, soit par pollution excrémentielle.

LE VIRUS APHTEUX. — Il est démontré expérimentalement que l'élimination du virus peut se faire par le lait, et les travaux de Vallée, de la Commission Anglaise et de Waldmann prouvent même qu'il apparaît très tôt dans ce liquide.

IV. - LA FLORE PATHOGÈNE D'ORIGINE EXOGÈNE

Nous serons très brefs à ce sujet. Il suffira de rappeler que les maladies les plus fréquemment transmises sont des affections à porte d'entrée digestive dont les germes vecteurs sont :

Eberthella typhi, les nombreuses espèces de *Salmonella*, agents des paratyphoïdes ; les *Shigella*, agents des dysenteries

bacillaires ; le *vibrion cholérique*, certains *Proteus* rendus responsables de diarrhées infantiles, les germes anaérobies appartenant à la famille des *Clostridiaceae* et enfin le *virus poliomyélitique* si l'on admet, comme on tend à le faire à l'heure actuelle, la contamination par voie digestive.

Il apparaît donc en conclusion que le lait est un excellent milieu de culture pour une infinie variété de microorganismes saprophytes et pathogènes.

Quel sera le devenir de cette flore au cours du traitement de pasteurisation ? Théoriquement, la plupart des espèces, étant soumises à une température supérieure à leur température léthale, doivent être détruites. Cependant les espèces sporulées résistent et ce sont elles que l'on peut trouver dans les laits parfaitement pasteurisés. Heureusement la plupart sont saprophytes. Le danger de contamination par un lait convenablement traité est donc minime, mais nous ne devons pas oublier, comme nous le montrerons dans le chapitre V, les pollutions postérieures à la pasteurisation.

CHAPITRE IV

MÉTHODES DE CONTROLE BACTERIOLOGIQUE DES LAITS PASTEURISÉS

Le décret du 26 Avril 1939 et un projet plus récent d'arrêté concernant le contrôle des ateliers de pasteurisation prévoient :

- 1° La numération microbienne,
- 2° La détection des germes indologènes,
- 3° Le contrôle du chauffage de pasteurisation,
- 4° La recherche des bactéries pathogènes.

Nous passerons rapidement en revue les différentes techniques préconisées.

I. - NUMÉRATION DES GERMES VIVANTS TOTAUX

Elle s'exprime par la moyenne arithmétique des nombres de colonies décomptables à l'œil nu sur deux boîtes de Pétriensemencées chacune avec 1 cm₃ d'une dilution au 1/1000^e en eau physiologique du lait considéré.

Le milieu de culture est un milieu standard de composition suivante :

Peptone pancréatique de viande....	5 grs.
Glucose	1 gr.
Lait écrémé	5 grs.
Gélose	15 grs.
Eau	1.000

En ce qui nous concerne, nous utilisons un milieu sec fourni par la Société Auxiliaire Parisienne de Produits Pharmaceutiques dit "Gélose de numération des bactéries lactiques". Sa constitution est identique, mais les 5 grs. de lait écrémés sont remplacés par 1 gr. de lait sec.

L'avantage réside dans la facilité de sa préparation et la constance dans sa composition.

L'incubation, d'une durée de 48 heures, est réalisée à 31°.

La dilution de l'échantillon de lait doit se faire avec quelques précautions :

1) Le flacon, conservé dans un emballage isotherme pendant le transport, puis au réfrigérateur jusqu'au moment de l'analyse, est agité énergiquement.

2) La capsule métallique est stérilisée par flambage.

3) A l'aide d'un coup sec, la capsule est perforée par une pipette stérile de 1 cm³, dont on plonge alors l'extrémité jusqu'à 1 ou 2 centimètres au-dessous du niveau liquide.

Le lait est aspiré, puis refoulé une ou deux fois dans la pipette avant d'effectuer le prélèvement.

1 cm³ de lait est alors introduit dans un tube contenant 9 cm³ d'eau physiologique stérile réalisant une première dilution au 1/10°.

1 cm³ de cette dilution au 1/10° (après agitation) est porté à nouveau dans 9 cm³ d'eau salée à l'aide d'une seconde pipette (dilution au 1/100°).

Une troisième et dernière opération identique réalise une dilution au 1/1000°.

1 cm³ de cette dilution au 1/1000° est projeté aseptiquement dans le fond d'une boîte de Pétri ; 10 cm³ de milieu gélosé liquéfié au bain-marie puis refroidi aux environs de 45° sont alors versés dans la boîte. Le mélange de l'inoculum et du milieu est réalisé immédiatement par agitation horizontale. Les boîtes, après solidification de la gélose, sont placées à l'étuve couvercle en dessous pour éviter la chute de l'eau de condensation à la surface du milieu.

Le législateur fixe minutieusement les normes des *pipettes* de 1 cm³ de la façon suivante :

- Longueur totale 265 à 285 mm
- Longueur entre le trait de jauge et la partie supérieure de la pipette. 100 mm (au minimum)
- Longueur entre le trait de jauge et l'extrémité effilée de la pipette.. 125 à 175 mm

- Longueur de la partie effilée de la pipette 10 à 15 mm
 - Diamètre extérieur de la pipette. 6,5 à 7,5 mm
 - Diamètre intérieur de la pipette effilée 1,2 à 1,5 mm
 - Epaisseur du verre à l'extrémité effilée 1 à 1,3 mm
 - Le trait de jauge doit être marqué avec un vernis qui contraste nettement avec la couleur du lait ou des dilutions de lait.
 - Le verre utilisé pour la fabrication des pipettes doit être résistant aux alcalis.
 - Le volume de lait ou de dilution de lait s'écoulant librement de la pipette entre le trait de jauge et l'extrémité effilée, la pipette étant inclinée à 30° par rapport à l'horizontale et la dernière goutte disposée sur la paroi sèche du récipient, doit être de 1 cm³ à 20°.
- Tolérance admise $\pm 0,025$ cm³.

De même les *boîtes de Petri* doivent être en verre très peu alcalin et répondre aux caractéristiques suivantes :

- Diamètre extérieur du couvercle..... 100 mm $\pm$ 5 mm
- Profondeur de la boîte..... 15 mm $\pm$ 2 mm
- Fond bien plat exempt de bulles d'air, rayures et autres défauts.

Certaines de ces conditions, il faut bien l'avouer, sont quelquefois difficiles à réaliser en ce qui concerne les pipettes livrées dans le commerce.

2° Détection des germes indologènes.

Ils doivent être absents dans 1 cm³ de lait.

Leur recherche est très simple.

1 cm³ de lait estensemencé dans au moins 60 cm³ d'eau peptonée. Après 48 heures de séjour à l'étuve à 37°, l'indol est recherché sur quelques cm³ de culture par addition de réactif d'Ehrlich-Kovacs. Un anneau rouge à la surface indique une réaction positive.

Le texte du décret indique dans son article 3, paragraphe *b* : « Réaction négative dans la recherche des bactéries coliformes (groupe *Escherichia* et *aerobacter*) dans un volume d'un centimètre cube de lait ».

En réalité, la recherche de l'indol est un moyen détourné pour mettre en évidence la flore microbienne d'origine fécale. Il faut bien avouer que le test à l'indol, s'il est positif, a une grande valeur comme présomption de contamination mais que, s'il est négatif, cela ne signifie pas d'une façon absolue qu'il n'y a aucun germe appartenant au groupe *Escherichia* et *Aerobacter*. En effet, le pouvoir indologène de certaines de ces entérobactéries est variable et nombreuses sont les *Escherichæ* qui ne produisent pas d'indol aux dépens du tryptophane.

Le tableau suivant donnera une idée de la complexité du problème :

INDOL	
<i>Escherichia coli</i> type I.....	+
» » type II	—
» <i>freundii</i> type I	—
» » type II	+
» <i>intermedium</i>	+ ou —
<i>Aerobacter aerogenes</i>	+ ou —
» <i>cloacæ</i>	—
<i>Paracoli aerogenoides</i>	—
» coliforme	+
» <i>intermedium</i>	+ ou —
» <i>anaerogenes</i>	+
» <i>arizona</i>	—

D'autre part, parmi la tribu des *Proteæ* : *Proteus vulgaris*, *morganii*, et *rettgeri* sont indologènes.

Il serait donc peut-être nécessaire pour obtenir plus de précision de pratiquer en outre un ensemencement sur milieu de Clark-Lubs pour la recherche de l'acétyl-méthyl carbinol (réaction de Vosges Proskauer) et un test au rouge de méthyle.

Il conviendrait aussi d'ajouter dans le même ordre d'idée la recherche des bactéries dites « putrides » qui produisent de l'hydrogène sulfuré aux dépens des protéines

contenant du soufre dans leur molécule. ROCHAIX et M^{lle} URTINETTE proposent à ce sujet une méthode simple qui permet à la fois la recherche de l'indol et de SH₂.

3° Contrôle indirect du chauffage de pasteurisation.

Deux méthodes sont proposées et consistent dans la recherche d'enzymes thermolabiles qui doivent donc être absents dans le lait pasteurisé, si celui-ci a été porté à une température convenable et n'a pas été contaminé ultérieurement par du lait cru.

Il s'agit en réalité de savoir si la température léthale de la plupart des bactéries pathogènes, et en particulier du bacille tuberculeux, a été atteinte, et l'absence d'enzymes thermolabiles permettra donc de présumer que la pasteurisation a été effectuée à une température suffisamment élevée pour assurer leur destruction.

Deux enzymes peuvent être recherchés : phosphatase et peroxydase.

A. — RECHERCHE DE LA PHOSPHATASE. — Cette diastase est inactivée par chauffage à une température supérieure à 60°.

La technique de mise en évidence, longue et délicate, repose sur la propriété de l'enzyme de libérer par hydrolyse le phénol d'une solution de phénylphosphate disodique. La mesure de l'activité de l'enzyme est effectuée en appréciant la quantité de phénol libéré par détermination colorimétrique au comparateur, avec témoin.

Le comparateur préconisé est du type Lovibond avec disques colorés ; voici la technique décrite dans l'annexe n° 7 du projet d'arrêté :

A) RÉACTIFS.

Substrat tampon :

1,09 g. de phénylphosphate disodique,
11,54 g. de diéthylbarbiturate de sodium.

Dissoudre dans un litre d'eau distillée saturée de chloroforme.

Réactif de Folin et Ciocalteu ⁽¹⁾ :

Additionné d'une solution à 5 % d'hexamétaphosphate de soude (1 volume de réactif pour 2 volumes de solution d'hexamétaphosphate de soude).

Solution de carbonate anhydre de sodium.

Préparer une solution aqueuse à 14 % de carbonate anhydre de sodium pur.

B) DESCRIPTION DE LA MÉTHODE.

Test à effectuer en double.

A 10 cm³ de substrat tampon mis dans un tube, ajouter 0,5 cm³ de lait bien mélangé. Agiter et incuber au bain-marie à 47° C. $\pm$ 2° C. pendant 10 minutes.

Refroidir ensuite à 15° C. sous le robinet.

Ajouter 4,5 cm³ de réactif de Folin et Ciocalteu.

Laisser reposer 3 minutes. Filtrer sur papier filtre et recueillir le filtrat dans un tube marqué à 10 cm³.

A 10 cm³ de filtrat, ajouter 2 cm³ de solution de carbonate de sodium.

Mélanger et placer le tube pendant exactement 2 minutes dans l'eau bouillante (continuant à bouillir). Refroidir.

(Dans le cas où l'on désire mettre en évidence une contamination par du lait cru, il y a intérêt à substituer à l'incubation à 47° C. pendant 10 minutes, une incubation de 24 heures à 37° C. $\pm$ 1° C.)

Test témoin à effectuer en double.

A 10 cm³ de substrat tampon mis dans un tube, ajouter 4,5 cm³ de réactif de Folin et Ciocalteu. Mélanger 0,5 cm³ de lait. Laisser reposer 3 minutes, filtrer.

A 10 cm³ de filtrat, ajouter 2 cm³ de solution de carbonate de soude, mélanger et placer le tube 2 minutes dans l'eau bouillante, refroidir. Comparer les couleurs des tubes tests et des tubes témoins au comparateur ou au tintomètre.

(1) Dissoudre 100 gr. de tungstate de sodium ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) et 25 gr. de molybdate de sodium ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dans 700 cm³ d'eau. Ajouter 50 cm³ d'acide phosphorique sirupeux (85°) et 100 cm³ d'acide chlorhydrique concentré. Après 10 heures, ajouter 150 gr. de sulfate de lithium pur, 50 cm³ d'eau et 5 gouttes de brôme liquide. Amener à 1.000 cm³ et filtrer. Au moment de l'emploi, diluer au tiers.

C) INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS.

Le lait pasteurisé efficacement et depuis moins de 18 heures ne présentera que des traces de couleur bleue, c'est-à-dire moins de 2,3 unités Lovibond. Si la couleur dépasse 2,3 unités L, mais n'atteint pas 6 unités L, le lait n'a pas été efficacement pasteurisé. Si la couleur dépasse 6 unités L, il est probable que le lait n'a pas été chauffé du tout. La couleur dans l'essai témoin ne doit pas dépasser 1,5 unités L.

RECHERCHE DE LA PEROXYDASE. — Elle peut se substituer à la recherche de la phosphatase si le lait a été chauffé à une température supérieure à 80° (pasteurisation haute). Elle est beaucoup plus simple et surtout plus rapide pour des tests en série. Sa signification est la même que celle de la phosphatase.

La peroxydase a la propriété de décomposer l'eau oxygénée en libérant de l'oxygène capable de se fixer sur une substance oxydable comme le gaïacol en fournissant un produit d'oxydation coloré.

A) RÉACTIFS.

- Solution aqueuse saturée de gaïacol (environ 2 %).
- Eau oxygénée à 10 volumes.

B) MODE OPÉRATOIRE.

Introduire dans un tube à essai :

- 2 cm³ environ de lait,
- 2 cm³ de solution de gaïacol,
- 1 goutte d'eau oxygénée.

Agiter et maintenir à la température de 20 à 30°.

Une réaction positive se manifeste par l'apparition d'une coloration rose saumon.

Cette réaction toutefois est erronée :

- Lorsque le lait contient certains éléments qu'il a solubilisés (comme le cuivre) et qui la rendent positive.

Dans ce cas on doit recommencer l'épreuve sur du lait soumis à l'ébullition.

- Lorsque le lait est trop acide (degré Dornic supérieur à 30).
- Lorsque le lait renferme du bichromate de potasse.

4° Recherche des bactéries pathogènes.

Elle sera effectuée, dit le projet d'arrêté, « selon les techniques particulières des laboratoires spécialisés ».

Nous touchons là en effet au point crucial du problème.

Les épreuves de présomption doivent faire place à des épreuves de certitude par la mise en évidence et l'identification des bactéries pathogènes pour l'homme.

Malheureusement, la diversité des affections que peut propager le lait est grande et la recherche des agents vecteurs de la maladie transportés par lui est toujours longue et délicate sinon impossible (virus).

De plus certaines bactéries, en se développant dans ce milieu éminemment favorable qu'est le lait, sécrètent ou libèrent des toxines à activité neurotrope ou entérotrope, les unes thermolabiles, les autres résistant à la chaleur.

La multiplication extrêmement rapide de ces micro-organismes dans les bouteilles de lait conservées dans des conditions défectueuses de température, favorables à la croissance microbienne, représente un réel danger de propagation de maladies infectieuses, en particulier chez l'enfant et le nourrisson.

Il est impossible d'envisager la recherche systématique des principales bactéries pathogènes pour l'homme. Cependant cette recherche doit être entreprise à notre avis :

a) Lorsque les examens répétés auront montré la présence d'indologènes et d'un nombre de germes vivants nettement supérieur à la normale.

b) Lorsque, en relation avec les Services Vétérinaires, il aura été suspecté une contamination possible chez le producteur.

Nous envisagerons dans ce travail la recherche des agents microbiens responsables

de la tuberculose,
des brucelloses,
et des infections typhoparatyphiques.

A) Dépistage de l'infection tuberculeuse.

De très nombreuses méthodes ont été employées, mais

aucune, il faut l'avouer, n'est capable d'allier la précision et la rapidité.

La recherche du bacille tuberculeux dans le lait devrait se faire en principe suivant les méthodes classiques de détection de ce germe dans un produit pathologique, à savoir :

a) Examen direct après traitement préalable et centrifugation dans un but d'enrichissement.

b) Culture sur milieux spéciaux à l'œuf en tenant compte des conditions spéciales de milieu propres à la variété *M. tuberculosis bovis*.

c) Inoculation au cobaye.

Ces deux dernières méthodes sont évidemment des méthodes de choix car elles apportent la certitude qu'il s'agit bien d'un bacille tuberculeux et non pas d'un des nombreux paratuberculeux saprophytes que l'on rencontre en grande abondance dans l'air, le sol, le fumier et les fourrages. Mais elles sont très difficilement applicables car la lecture de leur réponse (2 à 3 mois lorsqu'il s'agit d'un bacille bovin) leur enlève tout intérêt pratique.

Nous serons donc obligés de nous adresser à la première de ces méthodes, c'est-à-dire à l'examen direct et la certitude qu'il s'agira bien d'un bacille tuberculeux nous sera alors fournie non plus par le laboratoire mais presque toujours par le vétérinaire qui dépistera cliniquement l'animal ou le groupe d'animaux malades à l'origine de la contamination.

Il sera alors loisible à ce moment de contrôler bactériologiquement la véracité du diagnostic posé.

Examen direct des laits pour la recherche du bacille tuberculeux.

La méthode que nous rapportons ici et qui paraît donner les meilleurs résultats dans le dépistage de l'infection tuberculeuse est celle proposée et expérimentée sur le plan pratique par P. MELNOTTE, L. FERNIER et M. THOMAS, de Nancy.

Le protocole en est le suivant :

1° Mélanger à parties égales le lait et la solution alcool-ammoniacale de composition suivante :

Alcool à 80°	1.000 cc
Ammoniaque à 22° B.	600 cc

laisser en contact 1 à 2 heures.

2° Centrifuger à 5.000 tours/minute pendant 1 heure.

3° Décanter, égoutter.

4° Reprendre le culot avec 1/4 ou 1/2 cc d'eau physiologique.

5° Aspirer à la pipette et étaler sur lames en couche mince. Laisser évaporer.

6° Colorer après fixation par la méthode de Ziehl.

Ces auteurs, par une étude expérimentale préalable sur des échantillons de lait artificiellement pollués par du B.C.G., arrivent à déceler ce germe à un taux de contamination très notablement inférieur à 200 bacilles par centimètre cube.

Appliquant alors cette méthode de recherche sur le plan pratique, ils rapportent le dépistage du bacille tuberculeux dans des laits de mélange infectés, et qui leur permet de remonter à la source de contamination.

Le schéma est le suivant :

En présence d'un mélange de lait de collecte montrant à l'examen direct des bacilles acido-résistants, on procède à l'examen séparé d'échantillons provenant des différents secteurs.

On élimine ceux qui se montrent indemnes de contamination. Pour les autres, on examine des échantillons originaires des diverses étables. On localise ainsi celle qui est la cause de la pollution. A ce stade, il ne reste plus qu'à détecter l'animal ou les animaux qui sont à la source de la contamination. On procède donc par éliminations successives et le diagnostic vétérinaire viendra confirmer les résultats apportés par le laboratoire.

Cette confirmation est en effet nécessaire pour prouver qu'il s'agit bien de tuberculose et non pas de pollution fortuite par un bacille paratuberculeux, ce qui devrait alors être démontré par la culture et l'inoculation.

Malgré la simplicité apparente, la recherche de l'étiologie d'une contamination par le bacille tuberculeux est toujours une opération longue et délicate.

B) Diagnostic de l'infection à Brucella.

Deux méthodes sont apparemment utilisables :

a) Méthode directe de recherche du germe.

b) Méthode indirecte de mise en évidence des anticorps agglutinants dans le lactosérum.

Ces méthodes appliquées à des laits de grand mélange sont incapables de nous fournir des résultats valables à cause de la très grande dilution du germe ou des anticorps par rapport à la masse de lait, et d'autre part des difficultés d'isoler les *Brucella* à croissance lente (15 à 30 jours) au sein d'une flore microbienne saprophyte abondante.

L'inoculation au cobaye de lait contaminé et la recherche ultérieure des germes dans la moelle ou les viscères ou des anticorps agglutinants dans son sérum serait une méthode plus rigoureuse mais se heurtant elle aussi aux mêmes difficultés, en particulier la durée de l'expérimentation, qui est de 50 à 60 jours.

Lorsqu'on soupçonne, par contre, une infection à l'étable même, le diagnostic par la lactoagglutination est rapide et donne un pourcentage de résultats corrects convenable.

On peut pratiquer à cet effet, outre la lacto-agglutination avec le petit lait, l'épreuve de l'anneau ou Ring test, qui serait plus sensible.

Elle s'effectue non plus avec le lactosérum mais avec le lait et en utilisant comme antigène une suspension épaisse de *Br. abortus* colorée en bleu par une solution d'hématoxyline. Une réaction positive se manifeste par l'apparition d'un anneau bleu constitué par les bactéries agglutinées.

C) Infections typho-paratyphoïdiques.

Elles peuvent être d'origine animale (*Salmonella paratyphi*) ou humaine par contamination au moment de la traite ou après celle-ci par un malade, un porteur convalescent ou un porteur sain.

Source fréquente de toxi-infections intestinales chez l'adulte et le nourrisson, les entérobactéries devraient être systématiquement recherchées dans les laits suspects, notamment ceux qui renferment des germes indologènes.

Nous avons été amenés nous-mêmes à rechercher ces bactéries dans des échantillons de lait ayant été fournis dans une ville où s'étaient déclarés quelques cas de fièvre typhoïde.

Le lait avait été suspecté à tort, comme il fut prouvé par

la suite, mais à cette occasion nous avons mis au point une méthode de recherche des entérobactéries dans le lait.

Méthode classique réalisée par analogie avec la détection des entérobactéries dans les selles par coproculture et dont nous avons vérifié expérimentalement la valeur en polluant artificiellement des échantillons de lait avec des quantités approximativement connues d'*Eberthella typhi*. Nous rapporterons la technique suivie et les résultats dans le Chapitre VI.

Rappelons ici, toutefois, que l'identification de l'Entérobactérie après son isolement sur milieu de Kristensen se fait suivant les techniques courantes par l'étude des caractères biochimiques de la souche pure.

Les milieux utilisés sont au nombre de trois :

1° Milieu urée-indol.

2° Milieu mannitol-mobilité.

3° Milieu lactose-glucose-SH₂.

L'identification est complétée par l'étude sérologique.

Outre les agents de ces diverses affections, il serait évidemment souhaitable de pouvoir déceler dans le lait d'autres germes pathogènes tels que streptocoques ou staphylocoques qui provoquent fréquemment des mammites chez l'animal et qui peuvent être responsables chez l'homme d'affections diverses à localisation intestinale ou autre.

La mise en évidence des staphylocoques pyogènes par culture sur milieux sélectifs comme le milieu de Chapman paraît être aisément réalisable.

Il est enfin toute une catégorie d'agents infectieux qu'il nous est impossible à l'heure actuelle, dans l'état de la science, de soupçonner : ce sont les virus et parmi eux le virus aphteux et le virus poliomyélitique, dont la porte d'entrée digestive paraît être une des voies de contamination possible.

CHAPITRE V

RECHERCHE DES CAUSES DE POLLUTION DES LAITS PASTEURISÉS CERTIFIÉS

Nous rapporterons dans ce chapitre :

1° Les résultats du contrôle bactériologique des laits pasteurisés certifiés examinés de 1951 à 1953.

2° Les recherches des causes de pollution chez le pasteurisateur.

I. - Bases expérimentales.

CONTROLE BACTÉRIOLOGIQUE. — 1.052 échantillons de lait pasteurisé certifié ont été examinés au laboratoire de microbiologie de la Faculté depuis 1951 dans le cadre du contrôle des ateliers de pasteurisation, sous l'égide du Service de la Répression des Fraudes.

Nous ne pouvons rapporter dans ce travail les résultats détaillés de tous les laits examinés. Nous les avons groupés sous forme de tableau pour les années 1951 et 1952.

Nous avons établi une distinction arbitraire qui nous a semblée logique entre :

1° *Echantillons conformes à la dénomination*, c'est-à-dire contenant moins de 30.000 germes vivants par cm^3 et pas de germes indologènes dans 1 cm^3 .

2° *Echantillons renfermant plus de 30.000 germes par cm^3 et pas d'indologènes.*

3° *Echantillons renfermant moins de 30.000 germes par cm^3 et contenant des indologènes dans 1 cm^3 .*

4° *Echantillons renfermant à la fois plus de 30.000 germes et renfermant des germes indologènes.*

RÉSULTATS.

ÉCHANTILLONS EXAMINÉS

ANNEE	Nombre total	Conformes	Non conformes		
			Germes tot. > 30.000/cm ³ Indologènes = 0	Germes tot. < 30.000/cm ³ Indologènes +	Germes tot. > 30.000/cm ³ Indologènes +
1951...	455	276 soit 60 %	33 soit 7 %	64 soit 14 %	82 soit 19 %
1952...	426	315 soit 74 %	13 soit 3 %	79 soit 18 %	19 soit 5 %

Une statistique provisoire pour 1953 nous permet d'espérer une amélioration dans les résultats.

Une revue générale des comptes rendus détaillés d'examens nous permet certaines constatations et remarques :

1° Amélioration incontestable des résultats grâce au contrôle bactériologique, à la recherche des causes de pollution et à l'esprit compréhensif de la plupart des pasteurisateurs pour remédier aux défauts, aux erreurs et à l'ignorance du travail dans des conditions de propreté bactériologique.

2° La surveillance régulière des ateliers de pasteurisation, en collaboration avec le Service de la Répression des Fraudes (*) et dans un but « éducatif », nous a permis dans de nombreux cas d'obtenir une grande régularité dans les résultats.

Cependant il arrive parfois, après une série d'échantillons conformes qui témoignent d'une pasteurisation et de manipulations correctes, d'examiner brusquement des laits contaminés par des bactéries indologènes et renfermant un nombre de germes vivants totaux relativement bas et souvent inférieur à 30.000 par cm³.

Dans la plupart des cas, nous avons pu déceler — comme nous le montrerons plus loin — une pollution au niveau de l'appareil d'embouteillage. Notre statistique pour 1952, qui présente une amélioration dans les autres catégories par rapport à 1951, révèle par contre une légère aggravation dans celle-ci. C'est en effet, semble-t-il, une des causes de pollution plus « sournoise » que les autres et il est plus difficile d'y remédier.

3° Par contre, les contaminations massives en germes totaux et en indologènes ont nettement régressé à la suite des pasteurisations plus efficaces soit par la technique, soit par la sélection des laits crus et par l'utilisation d'eaux de lavage des bouteilles exemptes de colibacilles.

4° Nous avons eu à examiner un certain nombre d'échantillons prélevés chez le crémier dans les délais de 48 heures suivant la pasteurisation.

La plupart de ces examens ont montré une contamination

Qu'il nous soit permis de remercier ici particulièrement Monsieur l'Inspecteur principal Pouget et Monsieur le Docteur vétérinaire Maury pour leur aide précieuse.

nettement supérieure à celle que nous avons pu constater lorsque l'échantillon était prélevé à l'atelier de pasteurisation lui-même.

Ceci provient d'une façon générale de la non observation par certains détaillants des règles de conservation du lait pasteurisé, surtout pendant la saison chaude.

Très fréquemment, en effet, les bouteilles de lait stationnent hors d'un réfrigérateur et il nous a même été permis de constater aux premières heures de la matinée le séjour de casiers devant le magasin avant l'ouverture de celui-ci.

Il est évident que dans ces conditions déplorable la flore microbienne se développe activement, pouvant atteindre en quelques heures plusieurs centaines de milliers de germes par cm^3 , et que dans ce cas la malfaçon ne peut être imputée au pasteurisateur.

II. - PROTOCOLE DE RECHERCHE DES CAUSES DE POLLUTION CHEZ LE PASTEURISATEUR ET RÉSULTATS

En présence de lait pasteurisé certifié contenant soit un nombre de germes vivants totaux élevés, soit des indologènes, nous effectuons les prélèvements suivants :

1° Lait cru avant pasteurisation.

2° Lait à la sortie du pasteurisateur et dans certains cas lait à la sortie du circuit de chauffe et lait à la sortie du circuit de refroidissement.

3° Une bouteille capsulée correspondant à chaque tétine de l'appareil de distribution en notant le numéro.

4° Eau de rinçage contenue dans les bouteilles avant leur remplissage.

De nos enquêtes systématiques, nous pouvons envisager les cas suivants :

A. — POLLUTION DU LAIT CRU A L'ARRIVÉE.

Ce lait est en général fortement pollué, contenant de quelques centaines de milliers à quelques millions de germes par cm^3 et l'absence de germes indologènes est exceptionnelle.

L'importance du degré de pollution du lait cru ne saurait échapper à personne. Il est évident que la pasteurisation sera d'autant moins efficace que le lait sera plus contaminé à l'arrivée, et cette constatation qui frappe le bon sens se vérifie surtout pour les laits pasteurisés en couche mince par le procédé dit de Stassano.

D'une de nos enquêtes effectuées à ce sujet, il a pu être démontré expérimentalement par le pasteurisateur lui-même :

1° Que les laits lui parvenant le matin avant 10 heures (c'est-à-dire avant les grosses chaleurs) et provenant d'étables contrôlées dans lesquelles un minimum d'hygiène était observé fournissaient, après pasteurisation des laits conformes à la dénomination de « certifiés ».

2° Que les laits lui parvenant en fin de matinée et provenant de secteurs de ramassage plus éloignés et non contrôlés fournissaient, après pasteurisation, des laits dépassant largement le nombre de germes vivants autorisés et contenaient souvent des indologènes.

Le problème de l'hygiène des étables, de la traite et de la conservation à basse température avant et pendant le transport est donc le problème de base auquel il convient en premier lieu d'apporter une solution si l'on veut éviter une pasteurisation non seulement délicate mais encore défectueuse.

Il faut remarquer de plus que la chaîne de pasteurisation une fois contaminée par des laits pollués est très difficile à rendre bactériologiquement propre sur le plan industriel.

B. — POLLUTION A LA SORTIE DU PASTEURISATEUR.

Nous l'avons rarement observée, sauf dans certains cas où la contamination se faisait au passage dans le robinet de prélèvement et dans ces conditions nous avons pu constater la présence d'un bouchon véritable réservoir de germes.

Dans ce cas, en effet, le lait prélevé au robinet de sortie du pasteurisateur était pollué alors que le même lait en bouteilles ne l'était pas. Ce fait pouvait paraître paradoxal, mais la petite canalisation du prélèvement se situait en dehors du circuit normal conduisant à l'embouteilleuse.

Dans d'autres cas, il nous a été possible de relever un nettoyage imparfait des plaques du pasteurisateur ou une

insuffisance du temps de chauffage lors du passage des premières fractions de lait au début de la pasteurisation.

C. — POLLUTION AU NIVEAU DE L'EMBOUTEILLEUSE.

Nous avons effectué à ce sujet de nombreuses recherches qui nous ont été suggérées par le fait suivant : lors d'une enquête chez un pasteurisateur, nous prélevâmes un échantillon à la sortie du pasteurisateur et 2 bouteilles à l'embouteilleuse provenant de 2 tétines différentes.

L'échantillon à la sortie de l'appareil et le lait contenu dans une bouteille de 1 litre étaient conformes alors que le second litre renfermait des indologènes. Dans ces conditions, la pollution ne pouvait s'effectuer qu'au niveau de la tétine de remplissage.

Pour vérifier cette hypothèse, nous effectuâmes des prélèvements au niveau des 16 tétines de l'appareil de distribution.

Les résultats furent les suivants :

Le lait contenu dans les bouteilles remplies aux tétines n° 3, 4, 6, 7, 11 et 16 renfermait des indologènes, alors que les autres échantillons étaient conformes, de même un échantillon prélevé à la sortie du pasteurisateur.

Dans un autre atelier et à la même époque, 1 tétine sur 12 était polluée.

Il ressort de ces constatations que dans le premier cas les 6/16 de la production de lait et dans le second le 1/12 étaient contaminés.

Les résultats des analyses pouvaient donc paraître contradictoires si des échantillons provenant de tétines polluées ou non étaient examinés.

Il nous a été permis de constater qu'il s'agissait presque toujours d'une contamination au niveau du joint en caoutchouc sur lequel vient s'appliquer le goulot de la bouteille.

Certaines embouteilleuses permettent un démontage facile de ce joint et un nettoyage parfait par brossage et séjour dans une solution antiseptique, ce qui évite une contamination permanente.

Pour d'autres par contre, ce joint est logé assez profondément dans un manchon métallique, ce qui rend le démontage plus délicat.

L'esprit compréhensif de la plupart des pasteurisateurs a permis de remédier à ces inconvénients rapidement.

Signalons à ce sujet un exemple de résultat qui paraît aberrant à première vue. Il s'agit du contrôle d'un atelier de pasteurisation utilisant le procédé de Stassano :

3 prélèvements ont été effectués aux différents stades, à savoir :

Echantillon n° 1 prélevé au robinet de sortie de la partie chaude du pasteurisateur.

Echantillon n° 2 prélevé au robinet de sortie de la partie froide.

Echantillon n° 3 représenté par une bouteille de 1 litre prélevé après le capsulage.

Les résultats sont les suivants :

Echantillon n° 1	\	120.000 germes par cm ³
(lait chaud)	/	présence d'indologènes dans 1 cm ³
Echantillon n° 2	\	37.000 germes par cm ³
(lait froid)	/	absence d'indologènes
Echantillon n° 3	\	82.000 germes par cm ³
	/	présence d'indologènes

Le même jour, un examen bactériologique de l'eau de lavage des bouteilles avait montré l'absence de colibacilles dans 25 cm³ d'eau.

Ces résultats paraissent illogiques au premier abord, en effet :

1° Le lait à la sortie du pasteurisateur (lait froid) ne contient pas de germes indologènes, alors que le lait à la sortie de la partie chaude, donc pasteurisé, en renferme. La pollution provient du robinet de prélèvement.

2° Le lait en bouteilles contient des germes indologènes, alors que le lait à la sortie du pasteurisateur n'en renfermait pas. Le lait s'est ensemencé au niveau de la tétine de remplissage puisque la pollution par l'eau de lavage a été éliminée.

D. — EAU DE RINÇAGE DES BOUTEILLES.

L'eau industrielle distribuée dans nos ateliers de pasteurisation contient fréquemment des colibacilles. La plupart des pasteurisateurs ont installé des réserves d'eau rendue

potable par adjonction d'antiseptiques ou bien par un système de stérilisation continu.

A la suite de ces aménagements, les échantillons d'eau analysés se sont montrés dépourvus de colibacilles.

Cependant nous avons pu constater, à la suite d'un excès de rendement des laveuses, la présence de colibacilles indologènes dans l'eau de rinçage demeurant dans les bouteilles.

Une remarque s'impose enfin concernant l'aménagement plus ou moins convenable de certains ateliers. Nous avons remarqué en effet une contamination presque constante des échantillons de lait provenant d'installations ne comportant pas de canalisations en acier inoxydable dont les parois parfaitement lisses se prêtent parfaitement au nettoyage et « n'accrochent » pas les impuretés.

Nous devons enfin attirer l'attention sur les réservoirs de stockage du lait après pasteurisation. Ces tanks sont délicats à nettoyer d'une façon « bactériologique » et sont aussi fréquemment une cause de pollution.

En conclusion : La pasteurisation haute, malgré la pollution élevée des laits crus, permet d'obtenir un lait bactériologiquement propre, mais ce liquide se pollue principalement au moment de la mise en bouteilles ou son stockage dans les tanks de garde. Quant au procédé dit de Stassano, il nous semble être dans une certaine mesure moins efficace et plus délicat que la pasteurisation haute. En effet, nous avons constaté à de nombreuses reprises des teneurs en germes vivants totaux plus élevées par cette technique en couche mince.

CHAPITRE VI

ESSAIS DE MISE EN ÉVIDENCE D'EBERTHELLA TYPHI DANS DES ÉCHANTILLONS DE LAIT EXPÉRIMENTALEMENT POLLUÉS

Les décrets concernant le contrôle des ateliers de pasteurisation précisent que les laits pasteurisés doivent être exempts de germes pathogènes.

Or il est admis de façon indiscutable que la détection des bactéries pathogènes s'avère très délicate lorsqu'il s'agit d'un contrôle pratique et régulier.

Il faudrait en effet pouvoir mettre en évidence d'une façon simple et rapide les agents de maladies contagieuses que le lait peut véhiculer.

Parmi eux nous citerons :

LE BACILLE TUBERCULEUX, qui ne peut être détecté de façon certaine que par la culture rendue très délicate par l'abondance de la flore saprophyte ou par l'inoculation aux cobayes, méthode excellente mais trop longue pour des examens systématiques.

LES BRUCELLA. — Leur isolement dans le lait, pour les raisons de pollution que nous avons signalées à propos du bacille tuberculeux, s'avère une méthode de recherche délicate et incertaine. La recherche des anticorps agglutinants dans le lactosérum serait la seule technique pratique qui permettrait le diagnostic de brucellose.

L'inoculation au cobaye et recherche des agglutinines dans son sérum ou bien l'isolement des Brucella dans les ganglions ou la moelle de l'animal inoculé sont encore des procédés difficilement applicables au contrôle en série, comme nous l'avons montré précédemment.

LES STAPHYLOCOQUES PATHOGÈNES. — Comme pour les

examens bactériologiques d'eau, on peut rechercher non pas *Eberthella typhi* ou les *Salmonella* mais *Escherichia Coli.*, qui sera un témoignage de contamination fécale.

C'est ce que l'on entend dans la pratique courante par recherche des germes indologènes. Il est probable, en effet, que si le lait contient des colibacilles indologènes, il peut tout aussi bien renfermer des entérobactéries pathogènes, leur origine étant la même.

Il apparaît logiquement, d'autre part, que si le lait renferme des germes indologènes, ou bien la pasteurisation a été inefficace et dans ce cas la température ou le temps de chauffage insuffisants pour détruire non seulement ces bactéries mais aussi la flore pathogène qui pouvait les accompagner.

Nous devons signaler cependant, comme nous avons pu le remarquer à plusieurs reprises, que la pollution du lait par des germes indologènes peut se faire après la pasteurisation et dans ce cas n'exclut pas un traitement thermique efficace.

Dans un but essentiellement pratique, nous avons voulu nous rendre compte s'il était possible de mettre en évidence d'une façon simple et applicable à des examens en série une entérobactérie pathogène dans un lait artificiellement pollué.

Nous avons tenté aussi de déterminer la précision de la méthode. Nous avons choisi *Eberthella typhi* isolé récemment d'une hémoculture et dont nous avons contrôlé l'identité par l'étude de ses caractères biochimiques et sérologiques.

Plusieurs expériences ont été réalisées avec quelques variantes. Pour plus de clarté, nous rapporterons le protocole expérimental de l'une d'entre elles.

1° *Pollution expérimentale de l'échantillon de lait.*

Une série de tubes contenant 9 cm³ de lait sont ensemencés avec 1 cm³ de dilutions convenables d'une suspension en eau physiologique d'*Eberthella typhi* provenant d'une culture âgée de quelques heures, de façon à obtenir une concentration finale approximative et théorique de 1.000, 500, 100, 50 et 5 germes par cm³.

Ceci est réalisé à partir d'une solution mère de concentration microbienne déterminée par néphélémétrie et diluée à des taux convenables.

Nous pratiquons alors sur chaque échantillon une numération de germes vivants par dilution en gélose et culture en boîte de Pétri simultanément avec la recherche d'*Eberthella typhi* de façon à obtenir des chiffres s'approchant de la réalité.

2° Culture sur milieu d'enrichissement.

Nous avons choisi le milieu de Muller au tétrathionate. 7 cm³ de ce milieu sont ensemencés avec 5 cm³ de chaque échantillon de lait pollué. Les tubes sont placés à l'étuve à 37° pendant 24 heures.

3° Culture sur milieu d'isolement de Kristensen.

Après séjour à l'étuve, chaque échantillon est ensemencé sur une plaque de gélose de Kristensen à raison de 1 goutte de culture étalée à l'aide d'une pipette coudée.

4° Identification.

Les boîtes, après séjour de 24 heures à l'étuve, sont examinées. Les colonies lactose négatives sont identifiées par agglutination à l'aide de sérum anti-Eberth.

RÉSULTATS.

Au cours de 6 expériences successives, la concentration la plus faible en *Eberthella typhi* que nous avons pu mettre en évidence par cette méthode simple est de **6 germes par cm³** dans l'échantillon original.

Il apparaît donc que cette recherche d'Entérobactéries pathogènes (à la rigueur sans identification exacte du type pour le dépistage) peut être réalisée par une technique classique et suffisamment sensible.

Cette méthode, si elle n'est pas effectuée de façon systématique pour tous les échantillons de lait, pourrait l'être tout au moins pour ceux qui révèlent la présence de germes indologènes.

CONCLUSIONS

Nous avons essayé dans ce travail de situer le problème laitier dans le cadre du contrôle bactériologique des laits pasteurisés, et nous avons signalé son importance sur le plan économique et hygiénique.

Après avoir rappelé le principe général et quelques particularités techniques de la pasteurisation, nous avons étudié avec quelques détails la microbiologie du lait. Il nous a paru nécessaire de tenter une mise au point très schématique sinon complète des principaux représentants de la flore normale du lait.

L'étude des bactéries lactiques, en effet, est en plein essor et son importance n'échappe à personne en ce qui concerne les industries alimentaires, les industries de fermentation et la biologie.

En nous référant aux remarquables travaux, en particulier des auteurs danois et anglo-saxons, nous avons pu montrer la grande confusion qui règne encore au sein de cette immense famille des *Lactobacteriaceæ*. A côté de cette flore normale, nous avons signalé l'importance de la flore de pollution saprophyte et surtout pathogène, qui comprend de nombreuses espèces agents de maladies contagieuses humaines.

Nous avons exposé ensuite les méthodes de contrôle bactériologique systématiques applicables aux laits pasteurisés en accord avec la réglementation actuelle.

Nous avons indiqué les difficultés et même les impossibilités auxquelles on se heurte dès qu'on veut mettre en évidence d'une façon rigoureuse les bactéries pathogènes que l'on peut rencontrer dans le lait.

La recherche des causes de pollution des laits pasteurisés, essentiellement au stade de l'atelier de pasteurisation, a été l'objet principal de notre travail.

L'expérience de plus de deux années de contrôle bactériologique portant sur 1.052 échantillons de lait et des visites

nombreuses accompagnées de prélèvements aux divers stades de la fabrication dans les ateliers nous permettent de tirer quelques renseignements et conclusions :

1° Le rôle éducatif de l'homme de laboratoire auprès de l'industriel laitier porte ses fruits et corrige souvent des erreurs. Il est en effet très difficile industriellement, même avec des installations convenables, de travailler avec la rigueur bactériologique désirable et la moindre souillure, sans importance aux yeux du pasteurisateur non averti, peut contaminer pendant des jours une production à laquelle, par ailleurs, il attache toute son attention et sa sollicitude.

2° Le lieu le plus fréquent de contamination se situe, semble-t-il, au niveau des appareils de distribution et d'embouteillage. En effet, le contrôle des eaux de lavage démontrant leur pureté, celui du lait à la sortie du pasteurisateur prouvant sa faible teneur en germes vivants et l'absence d'indologènes, il est permis de constater la pollution de certaines bouteilles prélevées aux diverses tétines de l'embouteilleuse.

3° Le mode de conservation des bouteilles de lait depuis leur départ de l'usine jusqu'à la livraison au consommateur a une très grande importance à notre sens. De la température à laquelle elles seront soumises dépendra la richesse en bactéries. Trop souvent, dans nos régions tout au moins, elles sont laissées à une température supérieure à 12°. Il serait regrettable, dans ces conditions, que les pasteurisateurs puissent être tenus pour responsables d'un produit dépassant largement les normes fixées par les décrets, alors que le même échantillon à la sortie de l'usine s'y montrait conforme.

4° Notre étude n'a porté effectivement que sur une étape importante, mais restreinte toutefois, de la chaîne du lait. Le problème laitier, pour recevoir une solution satisfaisante, doit être envisagé dans son ensemble, c'est-à-dire depuis l'étable où vit l'animal et où est récolté le lait jusqu'au consommateur. L'éducation doit être faite à tous les stades en montrant à chacun ses devoirs et ses responsabilités et en lui apprenant à travailler dans des conditions compatibles avec une hygiène rationnelle. La coopération de tous les services paraît nécessaire à tous les échelons et chaque organisme a un rôle

prépondérant à jouer : à la base, semble-t-il, les Services Vétérinaires, mieux que quiconque à même de surveiller la qualité de la production, puis les Services de la Santé, qui doivent veiller à l'état sanitaire de la population, et enfin le Ministère de l'Agriculture, avec les Services de la Répression des Fraudes qui, à son rôle éducatif actuel, pourra substituer un rôle répressif se révélant nécessaire dans certains cas.

Le problème de la pollution microbienne des laits doit s'étendre enfin aux produits laitiers ou dérivés de consommation courante tels les laits fermentés et crèmes glacées, qui peuvent être la source de contaminations massives dont certaines d'allure épidémique.

Lu :

Le Président du Jury,
BALANSARD.

VU ET APPROUVÉ.

Pour le Doyen :

L'Assesseur,

J. DELPHAUT.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER.

Aix, le 11 juin 1953.

Le Recteur,

BLACHE.

BIBLIOGRAPHIE

- A. CALMETTE, L. NÈGRE et A. BOQUET. — Manuel de technique de Microbiologie et de Sérologie. — Masson, 1948.
- A. CALMETTE. — L'infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et les animaux. — Masson, 1936.
- J. DAYRE. — Dimensions des entreprises et productivité. L'exemple de l'Industrie laitière aux Etats-Unis, 1950.
- DOCUMENTATION FRANÇAISE. — Quelques aspects de l'équipement agricole en France, n° 1545, 1546, 6 et 7 nov. 1951.
- DORNER, DEMONT, CHAVANNES. — Microbiologie laitière. — Payot, Lausanne, 1945.
- DUBOS. — Bacterial and Mycotic infections of man. — Lippincott, 1948.
- DUMAS. — Bactériologie Médicale. — Flammarion, 1952.
- J. EHREWEIN. — Etude sur le lait. — Thèse pharmacie Lyon, 1941.
- GALESLOOT. — Quelques aspects de la bactériologie du lait pasteurisé. — *Nederlands Melk, en Zwivelt*, 1951-5, n° 2, avril-juin, 75, 93.
- GALESLOOT. — Sur le comptage sur plaque du lait pasteurisé du commerce. — *Nederlands Melk, en Zwivelt*, 1951-5, n° 2, avril-juin, 103.
- GIBERT. — Recherche sur la contamination par le bacille tuberculeux bovin du lait et des produits laitiers livrés à la consommation parisienne. — *C.R. Soc. de Biol.*, avril 1945, n° 7 et 8.
- GIROUX. — Effets de nettoyage centrifuge sur le lait. — *Congrès Nat. de l'Industrie laitière*, Nancy, 1936.
- HAUDUROY. — Inventaire et description des bacilles tuberculeux. — Masson, 1946.
- HAUDUROY, BOUVIER et ROSSET. — Diagnostic des brucelloses par les méthodes de laboratoire. — *Revue de Microbiologie appliquée*, mai-juin 1935, n° 6.
- J. JEGNUS. — Etude comparative des méthodes de contrôle de pasteurisation. — Thèse Nancy, 1939.
- KAY. — Avantages de la pasteurisation ultra-rapide. — *Nutrition abstract and review*, 1939, 9, 1.
- KON. — Revue des Etudes publiées sur la valeur du lait de vache dans l'alimentation humaine et sur l'effet de son traitement sur sa valeur alimentaire. — *British Medical Bulletin*, vol. v, n° 2, 3, 1947, 170, 176.
- LEVADITI. — La poliomyélite (paralysie infantile ou maladie de Heine Medin). — *Biologie Médicale*, n° 2, fév.-mars 1952.
- E. LEFORT. — Contribution à l'étude de l'infection tuberculeuse du lait. — Recherche du bacille tuberculeux dans les laits de la région du Nord de la France. — Thèse de Pharmacie, Lille 1937.
- MELNOTTE, FERNIER et THOMAS. — Le dépistage de l'infection tuberculeuse des laits par l'examen direct, Méthode pratique de surveillance des laits de mélange. Applications épidémiologiques. — *Bull. assoc. dipl. microbiologie Nancy*, n° 48, juillet 1952.
- POLONOVSKI, BOULANGER, MACHEBOËUF, ROCHE. — Biochimie Médicale. — Masson, 1952.

- PIEN. — Pour la pasteurisation obligatoire du lait de consommation. — *Le Lait*, jan.-fév. 1952, 1.
- PORCHER. — La pasteurisation du lait. — *Le Lait*, n° spécial, janv.-fév. 1935.
- RANDOIN. — *Bulletin Soc. Chim. Biol.* 1941, 23, 437.
- RAY. — Technologie laitière. — Dunod, 1951.
- ROADHOUSE et HENDERSEN. — The market milk industry, 1941.
- ROCHAIX et DELBOS. — L'épizootie de la fièvre aphteuse bovine actuelle. Y a-t-il eu des cas de transmission à l'homme ? — *Revue d'Hygiène et de Méd. Préventive*, mai 1938, 321, 330.
- ROCHAIX et TAPERNOUX. — Le lait et ses dérivés. — Vigot, 1948.
- SARTORY et MEYER. — Microbiologie pratique. — Maloine, 1950.
- STARK, ROLLAND, WHITE et GURDIAN. — Etudes sur le lavage des bouteilles dans des conditions industrielles. — *The Dairy World*, n° 5, oct. 1949, 46, 48.
- TITSLER, Carl S. PEDERSON, SNELL, HENDLEN, NIVEN. — Symposium on the lactic acid bacteria. — *Bacteriological Reviews*, vol. 16, n° 4, déc. 1952.
-

